H15-g.14

Glasgow
University Library

654 - 1910

A 15 - g. 14.

30114013015345

Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens

mit besonderer Berücksichtigung der

forensischen Blut- und Fleischuntersuchung, sowie der Gewinnung präzipitierender Sera.

Von

Prof Dr. **P. Uhlenhuth** und Dr. **O. Weidanz**

Geheimem Regierungsrat und Direktor der bakteriologischen Abteilung im Kaiserl. Gesundheitsamt

Kreisarzt in Bremen, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter

Mit 38 Figuren im Text.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

1909.

ALLE RECHTE VORBEHALTEN.

Vorwort.

In meinem im Jahre 1905 in diesem Verlage erschienenen Buche „Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut, sowie anderer Eiweißsubstanzen und seine Anwendung in der forensischen Praxis“ hatte ich meine in verschiedenen Zeitschriften zerstreuten Arbeiten zusammengestellt in der Absicht, an der Hand dieser Originalaufsätze den Entwicklungsgang der damals noch so jungen Methode zu kennzeichnen.

Für den vorliegenden Zweck war von einer monographischen Darstellung Abstand genommen, eine solche aber für später in Aussicht gestellt. Nachdem nun das biologische Verfahren dank der Mitarbeit zahlreicher Forscher von Jahr zu Jahr immer mehr vervollkommnet ist, seine Zuverlässigkeit und Leistungsfähigkeit allgemein anerkannt und seine Anwendung nicht nur für die forensische Blutuntersuchung, sondern auch für den Nachweis von Pferdefleisch in der Auslands- und Inlandsfleischbeschau offiziell vorgeschrieben ist, dürfte es angezeigt sein und einem praktischen Bedürfnis entsprechen, den jetzigen Stand der Technik und Methodik des biologischen Verfahrens in ausführlicher monographischer Darstellung zusammenzufassen.

Für die forensische Blutuntersuchung hatte ich bereits früher zusammen mit Beumer eine kurze Anleitung gegeben. In Gemeinschaft mit meinem Mitarbeiter Weidanz habe ich diese Anleitung nach den verschiedensten Richtungen hin für die Bedürfnisse der Praxis noch weiter ausgearbeitet in der Erwägung, daß bei so wichtigen verantwortungsvollen Untersuchungen, wie sie die forensischen Blut- und Fleischuntersuchungen darstellen, nach einheitlichen Gesichtspunkten, ja, ich möchte fast sagen, nach einem bestimmten Schema gearbeitet werden muß, in ähnlicher Weise wie dies bei der bakteriologischen Cholera- oder Pestdiagnose vorgeschrieben ist. Die von uns aufgestellten Grundsätze basieren auf Erfahrungen, wie wir sie im Laufe der Jahre auch unter den ernsten Verhältnissen der Praxis in reichem Maße zu sammeln Gelegenheit hatten. Wir glauben daher, daß die von uns gegebene Anleitung das Richtige treffen und dem Sachverständigen von Nutzen sein wird. Jedenfalls haben wir die Erfahrung gemacht, daß Sachverständige, die unter unserer Leitung in besonderen Kursen nach diesen Vorschriften gearbeitet haben, in verhältnismäßig kurzer Zeit imstande waren, forensische Untersuchungen nach der Präzipitinmethode auszuführen.

Damit soll natürlich nicht gesagt sein, daß nicht auch nach Methoden, wie sie in anderen Laboratorien geübt werden, brauchbare Resultate erzielt werden.

Da die biologische Methode heutzutage nicht nur von Immunitätsforschern, sondern auch von Gerichtsärzten, Tierärzten, Nahrungsmittelchemikern, von Physiologen, Zoologen, Botanikern usw. ausgeübt und für die verschiedensten Zwecke der Praxis nutzbar gemacht wird, so sind wir bemüht gewesen, den Bedürfnissen aller dieser Fachleute gerecht zu werden und möglichst wenig spezialistische Kenntnisse vorauszusetzen. Der Immunitätsforscher wird daher in dem Büchlein viel Bekanntes finden, doch wird es auch ihm vielleicht willkommen sein, unsere technischen Einzelheiten kennen zu lernen und zu sehen, wie sich die Methode bei Handhabung derselben nach ganz bestimmten Normen in der Praxis bewährt hat.

Es sind daher auch eine große Anzahl von Gutachten wiedergegeben, welche geeignet sind die Leistungsfähigkeit der forensischen Serodiagnostik zu illustrieren.

Damit wird auch derjenige, der mit der Methode nicht selbst arbeitet, wohl aber mit dem Wesen und der Bedeutung der Reaktion vertraut sein muß, wie der Verwaltungsbeamte, Untersuchungsrichter, Staatsanwalt usw. in dem vorliegenden Buche eingehende Belehrung finden.

Außer der Präzipitinreaktion ist auch die Methode der Komplementbindung, wie sie von Neisser und Sachs zur Ergänzung der Präzipitinreaktion empfohlen worden ist, ausführlich behandelt; auch die neuerdings zur Eiweißdifferenzierung in Vorschlag gebrachte Anaphylaxiereaktion ist anhangsweise von mir in Gemeinschaft mit Haendel bearbeitet.

Besonders eingehend haben wir die Technik der Herstellung der präzipitierenden Sera behandelt, da diese, wie wir aus Erfahrung wissen, dem Sachverständigen mancherlei Schwierigkeiten bereitet.

Die zahlreichen Abbildungen, deren Herstellung wir zum großen Teil der Liebenswürdigkeit der Herren F. & M. Lautenschläger verdanken, werden dem Sachverständigen willkommen und geeignet sein, ihm die technischen Einzelheiten möglichst instruktiv vor Augen zu führen. So glauben wir, daß das Buch auf Vollständigkeit Anspruch machen kann.

Für die sorgfältige und gediegene Ausstattung des Buches sprechen wir dem Verleger Herrn Gustav Fischer unsern besten Dank aus.

Berlin-Groß-Lichterfelde, im August 1909.

Uhlenhuth.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Vorwort . . . . . III—IV

Inhaltsverzeichnis . . . . . V—VI

Übersicht über die Entwicklung und praktische Verwertbarkeit des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens 1— 26

Praktische Anwendung des biologischen Verfahrens für die forensische Blut- und Fleischuntersuchung . . . . . 26—185

A. Technik und Methodik des biologischen Verfahrens für Unterscheidung verschiedener Blutarten . . . . . 26—133

1. Der chemisch-physikalische Nachweis von Blut . . . . . 27— 37
2. Bestimmung der Art des Blutes (ältere Methoden) . . . . 37— 41

Gang des biologischen Verfahrens (nach UHLENHUTH) . . . . . 41— 91

a) Vorversuch zur Bestimmung der Wirksamkeit des spezifischen Serums . . . . . 41— 44

b) Behandlung des Untersuchungsmateriales zwecks Prüfung mittels der biologischen Methode . . . . . 44— 47

c) Ausführung der biologischen Methode 48

d) Beurteilung des Befundes . . . . . 49— 51

Kapillarmethode (HAUSER-CARNWATH) . . . . . 51— 55

Untersuchung der Herkunft von Blut in Insekten usw. . . . . 54— 55

Einfluß der Fäulnis . . . . . 55— 57

Einfluß der Hitze 57

Einfluß des Alters und der Austrocknung 58

Chemische Einflüsse . . . . . 58— 59

Anwendung der biologischen Methode bei Vorhandensein mehrerer Blutarten . . . . . 59— 60

Leistungsfähigkeit der Präzipitinmethode in der forensischen Praxis 60— 61

Verwandtschafts-Reaktionen (UHLENHUTH und NUTTALL) und Unterscheidung verwandter Blutarten . . . . . 62— 72

Individuelle Blutdiagnose . . . . . 69— 71

Geschlechtsdifferenzen 71

Differenzierung des Blutes verschiedener Menschenrassen . . . 72

Komplementbindungsmethode (NEISSER und SACHS) . . . . . 72— 88

dito bei kleinen Mengen nach (CARNWATH und WEIDANZ) . . 79— 85

Der quantitative Blutnachweis . . . . . 88— 90

Gang einer Blutuntersuchung . . . . . 90— 91

Gutachten (Blutnachweis) . . . . . 129—132

Preußen . . . . . 129—130

Österreich . . . . . 130—131

Württemberg 131

Baden 132

B. Technik und Methodik des biologischen Verfahrens für den Nachweis verschiedener Fleischarten (Pferdefleisch usw.) . . . . . 133—160

1. Fleischbeschau . . . . . 133—147

(Ausführungsbestimmungen D nebst Anlage a, b, c, d zum Schlachtvieh- und Fleischbeschaugesetz 22. Februar 1908)

Anweisung für die chemische Untersuchung von Fleisch und Fetten (§§ 11—14 und 16 der Ausführungsbestimmungen D) . . . 134

Seite

Anweisung für die biologische Untersuchung auf Pferdefleisch (frisches, gefrorenes, ausgetrocknetes, geräuchertes, gepökeltes, gekochtes, faulendes Fleisch) . . . . . 134—145
Untersuchung von Fettgewebe mit Hilfe der biologischen Methode 145—147
Untersuchung von Pferdedärmen mit Hilfe der biologischen Methode 147
2. Nahrungsmittelprüfung . . . . . 147—160
Fleischgemische 148
Wurst . . . . . 148—151
gekochte Wurst, faulende Wurst . . . . . 151—152
Complementbindungsmethode für die Fleisch- und Wurstuntersuchung 153—159
Quantitative biologische Eiweißbestimmung für die Nahrungsmittelkontrolle 160
Untersuchung von Nährpräparaten 160
Verfügungen betr. biologische Untersuchung auf Pferdefleisch
1. Deutsches Reich (Fleischbeschaugesetz) . . . . . 161—162
2. Preußen . . . . . 162—163
3. Württemberg 163
Gutachten betr. Nachweis von Pferdefleisch (auch in Würsten). . . 164—166
Zusammenstellung der Stoffe und Geräte für die Ausführung der biologischen Blut- und Fleischuntersuchung . . . . . 166—168
Anhang. Bestimmung der Herkunft von Mumienmaterial mit Hilfe spezifischer Sera . . . . . 169—174
Verwertung der Anaphylaxiereaktion für die biologische Eiweißdifferenzierung (bearbeitet von UHLENHUTH u. HAENDEL) 175—185
Ausführung der Anaphylaxiereaktion 179
a) Vorbehandlung . . . . . 179—180
b) Prüfung . . . . . 181—182
Das anaphylaktische Krankheitsbild 183
Passive Anaphylaxie 183
Verwertbarkeit der Anaphylaxiereaktion in der Praxis 184
Literatur über Anaphylaxie 185

Technik und Methodik der Serumgewinnung . . . . . 186—230
1. Auswahl der serumliefernden Tiere . . . . . 186—187
2. Auswahl des Injektionsmaterials . . . . . 187—189
3. Gewinnung des Injektionsmaterials . . . . . 189—194
4. Art der Einspritzung des Materials . . . . . 194—204
5. Unterbringung und Beobachtung der Versuchstiere . . . . . 204—205
6. Probeblutentnahme zwecks Serumprüfung . . . . . 205—207
7. Definitive Blutentnahme und Serumgewinnung . . . . . 207—208
8. Notwendige Eigenschaften präzipitierender Sera . . . . . 208—221
a) Klärung und sterile Filtration des Antiserums . . . . . 209—214
Opaleszenz des Antiserums . . . . . 215—216
b) Titerbestimmung . . . . . 216—220
nach NUTTALL . . . . . 216—219
nach WASSERMANN und SCHÜTZE 219
nach UHLENHUTH und BEUMER . . . . . 219—220
c) Spezifitätsbestimmung 220
9. Konservierung präzipitierender Sera . . . . . 221—230
Literatur . . . . . 330—246

Übersicht über die Entwicklung und praktische Verwertbarkeit des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens.

Durch die Untersuchungen von v. Behring und Wernicke aus dem Jahre 1890 war festgestellt, daß in dem Blutserum von mit Diphtheriegift vorbehandelten Tieren spezifische antitoxische Stoffe auftreten, die imstande sind, das zur Einspritzung benutzte Gift im Tierkörper und im Reagenzglase zu neutralisieren. In ähnlicher Weise gelang es dann auch Antitoxine gegen eine Reihe anderer Bakteriengifte (Tetanus-, Botulismus-, Pyocyaneustoxin), gegen Pflanzengifte (Ricin, Abrin, Crotin, Robin usw.), gegen tierische Gifte (Schlangengift, Aalgift, Krötengift. Spinnengift) herzustellen (v. Behring, Kitasato, Brieger, Kempner, A. Wassermann, Ehrlich, Phisalix und Bertrand, Camus und Gley, H. Kossel).

Im Jahre 1894 konnte dann R. Pfeiffer nachweisen, daß in dem Blutserum von Tieren, die mit Cholera- oder Typhusbakterien eingespritzt waren, ebenfalls spezifische Immunkörper („Antikörper") auftreten, welche die betreffenden Bakterien in bestimmter Weise beeinflussen, indem sie dieselben in der Bauchhöhle des Meerschweinchens zur Auflösung bringen.

Die Wirkung dieser sogenannten bakteriolytischen Stoffe tritt in sinnfälliger Weise in die Erscheinung, wenn man das Immunserum mit den betreffenden Bakterien, z. B. Cholerabazillen vermischt und Meerschweinchen in die Bauchhöhle einspritzt. Man kann dann in dem mittels Kapillaren entnommenen Peritonealexsudat eine Aufquellung sowie eine Auflösung der betreffenden Bakterien beobachten und zwar werden nur diejenigen Bakterien aufgelöst, welche die Antikörperbildung veranlaßt haben.

Zwei Jahre später haben von Gruber und Durham noch weitere spezifische Stoffe in dem genannten Serum nachweisen können, nämlich Stoffe, welche Cholera- bzw. Typhusbakterien in Aufschwemmungen ihrer Kulturen zusammenballen (Agglutinine). Ein solches hochwertiges Cholera- oder Typhusserum agglutiniert in bestimmten Verdünnungen nur Cholera- bzw. Typhusbazillen, nicht aber andere Bakterien. Mit Hilfe dieser spezifischen Reaktion war man daher imstande, die betreffenden Bakterien von anderen zu unterscheiden. Es lag nun nach

diesen Befunden der Gedanke nahe, daß auch in den aus Bakterienleibern hergestellten Extrakten mit spezifischem Serum ähnliche Reaktionen auftreten würden, wie in den Kulturen selbst; war doch von Widal, Levy und Bruns bereits festgestellt, daß man mit keimfreien Filtraten aus Typhus- und Cholerabouillonkulturen immunisieren und so ein Serum mit denselben agglutinierenden Eigenschaften gewinnen konnte wie jenes, welches durch Einspritzung von Reinkulturen selbst erzeugt worden war.

Rudolf Kraus, der diesen Weg weiter verfolgte, erbrachte dann auch im Jahre 1897 den Nachweis, daß Immunserum in Filtraten der Bakterienkulturen spezifische Niederschläge erzeugte, und zwar traten diese Niederschläge nur dann auf, wenn ein Immunserum mit dem Filtrate der zugehörigen Bakterienkultur zusammengebracht wurde. So konnten beispielsweise mit Choleraimmunserum in Cholerakulturfiltraten, mit Typhusserum in Filtraten aus Typhuskulturen usw. Niederschläge hervorgerufen werden.

Diese Untersuchungen von R. Kraus wurden bald bestätigt durch Nicolle, welcher weiterhin zeigte, daß die keimfreien Filtrate von Bakterium coli und Vibrio Massauah durch homologes Serum ebenfalls spezifisch ausgefällt werden.

Ähnliche Resultate konnte Marmorek für das Streptokokkenserum feststellen. Auf Grund der nachgewiesenen Spezifität dieser Präzipitinreaktion mußte man annehmen, daß ihr eine ebenso wichtige diagnostische Bedeutung zukommen müsse, wie z. B. der Agglutination und dem Pfeifferschen Phänomen.

Wladimiroff war dann der erste, welcher die Bakterienpräzipitine zu diagnostischen Zwecken benutzte, und zwar fand er, daß das Serum eines rotzkranken Pferdes, zu dem Filtrat einer Rotzkultur hinzugefügt, in dieser einen Niederschlag erzeugte. In ähnlicher Weise zeigte Markl, daß die spezifischen Niederschläge bei der Diagnose der Pestbazillen verwertet werden können. Weitere eingehende Untersuchungen über diese Fragen verdanken wir dann Kraus selbst, welcher die von ihm gefundenen Bakterienpräzipitine zur Differenzierung artverwandter Mikroorganismen in ausgiebigster Weise verwendete. Von den neueren diesbezüglichen Untersuchungen seien erwähnt die Arbeiten von Fornet, Bonome, v. Eisler, Porges und Heyrowsky, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden kann.

Eine allgemeine Geltung haben dieser Reaktion erst Tchistovitch und Bordet (1899) verschafft, indem sie zeigten, daß nicht nur die pflanzlichen, sondern auch die tierischen Eiweißkörper Präzipitine zu bilden imstande sind.

So beobachtete Tchistovitch, daß das Serum von Kaninchen, die mit Pferde- oder Aalserum vorbehandelt waren, in dem Pferde- oder Aalserum eine Ausfällung der Eiweißstoffe hervorrief. Bordet bestätigte diese Untersuchungen von Tchistovitch unmittelbar darauf mit dem Serum eines mit defibriniertem Hühnerblut vorbehandelten Kaninchens.

Man erinnerte sich nunmehr an die Kraussche Entdeckung und konnte im Hinblick auf die von diesem Forscher festgestellte Lehre von der Spezifität der Bakterienpräzipitine auch bei den Blutpräzipitinen eine solche Spezifität nachweisen.

Bordet hatte bereits vorher die wichtige Beobachtung gemacht, daß nach Einspritzung von defibriniertem Blute in dem Serum der so

vorbehandelten Tiere Stoffe auftreten, welche die betreffenden Blutkörperchen des zur Vorbehandlung benutzten Blutes aufzulösen und zusammenzuballen imstande sind.

Somit war die sehr interessante Tatsache festgestellt, daß ebenso wie nach Einverleibung von Bakterienkulturen auch nach Einspritzung von Blut spezifische, auflösende (hämolytische), agglutinierende und präzipitierende Substanzen im Tierkörper gebildet werden. Bordet fand dann weiterhin, daß sich auch nach Einspritzung von Kuhmilch in dem Blutserum von Kaninchen Präzipitine bilden, welche das Kasein der Kuhmilch zur Ausfällung bringen. Diese Versuche von Bordet mit dem von ihm so benannten Laktoserum wurden dann in ähnlicher Weise wiederholt von Fish, der die Spezifität dieser Laktoserumreaktion zum ersten Male nachwies (Februar 1900), indem er fand, daß ein Kuhlaktoserum nur in Kuhmilch, nicht aber in Menschen- oder Ziegenmilch einen Niederschlag hervorruft. Gleiche Versuche, über welche Ehrlich in der Croonian lecture (22. März 1900) berichtet, stellte Morgenroth an und kam zu demselben Resultat wie Fish. Auch die von Wassermann und Schütze zu derselben Zeit unabhängig von diesen Forschern unternommenen Untersuchungen führten zu demselben Ergebnis und bewiesen zugleich die Möglichkeit, die verschiedenen Milcharten biologisch voneinander zu unterscheiden.

Mit dem Nachweis der Spezifität dieser Reaktionen war begreiflicherweise ihre praktische Verwertbarkeit auf eine sichere wissenschaftliche Grundlage gestellt.

Ehrlich, Myers und Uhlenhuth stellten weiterhin fest, daß nach Einspritzung von Hühnereiereiweiß in kristallinischem oder nativem Zustande in dem Serum der hiermit behandelten Kaninchen spezifische Präzipitine für Eiereiweiß auftreten. Uhlenhuth studierte die Frage, ob es nicht möglich sei, mit Hilfe dieser spezifischen Reaktionen die Eiweißstoffe verschiedener Vogeleier zu unterscheiden. Diese Untersuchungen, die er auf Hühner-, Gänse-, Enten-, Puten-, Perlhuhn-, Tauben-, Möven- und Kibitzeier ausdehnte, führten zu positivem Ergebnis, denn es gelang in der Tat, die Eiweißstoffe dieser Eier, abgesehen von den nahe verwandten Vögeln, auf diesem biologischen Wege bis zu einem gewissen Grade zu differenzieren. Denn es ergab sich bei diesen Untersuchungen eine weitgehende Verwandtschaft unter dem Vogeleiweiß; jedoch war Uhlenhuth imstande, mit Hilfe des spezifischen Eierklar-Antiserums, das Eiereiweiß vom Serumeiweiß der verschiedensten Tiere zu unterscheiden, andrerseits auch wieder im Handel befindliche Eiereiweißpräparate als solche biologisch festzustellen und in anderen das Fehlen von Eiereiweiß mit Sicherheit nachzuweisen. Diese Tatsache beanspruchte, wie wir noch sehen werden, für die Nahrungsmittelchemie ein großes praktisches Interesse, zumal da Uhlenhuth auch feststellen konnte, daß die Reaktion außerordentlich fein und empfindlich ist, so daß der spezifische Nachweis von Eiweiß noch möglich war bei Verdünnungen von 1 : 100000, während die gebräuchlichen chemischen Eiweißreaktionen schon bei Verdünnungen über 1 : 1000 versagten.

Gelegentlich seiner Studien über die Unterscheidung der Eiweißstoffe der verschiedenen Vogeleier suchte dann Uhlenhuth der interessanten Frage näher zu treten, ob es nicht möglich sei, mit Hilfe dieser sehr feinen biologischen Methode Unterschiede nachzuweisen zwischen den Eiweißkörpern des Hühnereies und des Hühnerblutes.

Um diese Frage zu entscheiden, wurden Kaninchen mit defibriniertem Hühnerblut eingespritzt. Es zeigte sich, daß das Serum der so vorbehandelten Kaninchen in einer stark verdünnten Hühnereiereiweißlösung erst nach längerer Zeit einen schwachen Niederschlag erzeugte, während in einer ebenso stark verdünnten lackfarbenen Hühnerblutlösung eine momentane starke Fällung zu beobachten war. Es war hiermit auf biologischem Wege bewiesen, daß eine gewisse Differenz zwischen den Eiweißkörpern des Hühnereies und des Hühnerblutes bestehen müsse. Die Beobachtung, daß in der Hühnerblutlösung bei Zusatz des spezifischen Serums ein starker Niederschlag auftrat, während alle anderen zur Kontrolle herangezogenen, stark verdünnten Blutlösungen der verschiedensten Tiere bei Zusatz dieses Serums absolut klar blieben, gab Uhlenhuth die Anregung zu der Ausarbeitung einer Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten. Eine solche Methode fehlte bisher in der gerichtlichen Medizin. Schon bei frischem Blut war der Nachweis der Herkunft außerordentlich unsicher und bei angetrocknetem Blut überhaupt nicht möglich.

Auf Grund der modernen Immunitätsforschung hatte bereits L. Deutsch eine Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut ausgearbeitet, indem er die spezifischen, auf die erhaltenen roten Blutkörperchen wirkenden, von Bordet entdeckten Hämolysine als Reagens benutzte. So lieferten Kaninchen, die mit menschlichen Blutkörperchen vorbehandelt waren, Sera, die nur menschliche Blutkörperchen auflösten. Da diese Methode aber nur bei intakten roten Blutkörperchen gelingen kann, eine Voraussetzung, die in gerichtlichen Fällen meist nicht erfüllt ist, so hat sie eine praktische Bedeutung nicht erlangt.

Später haben Marx und Ehrnrooth die Tatsache, daß Blutkörperchen durch ein heterologes Serum zusammengeballt (agglutiniert) werden, für die forensische Praxis zu verwerten gesucht. Das Verfahren kann aber ebenfalls als eine zuverlässige Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut, wie unten näher ausgeführt wird, nicht in Betracht kommen.

Das zuerst von Uhlenhuth und kurz darauf auch von Wassermann und Schütze angegebene Verfahren hat dann die Frage der Blutdifferenzierung vom gerichtsärztlichen Standpunkte aus endgültig gelöst; denn es zeigte sich, daß das Serum von Kaninchen, die mit Menschen- oder Tierblut wiederholt eingespritzt waren, nur in Lösungen der zur Vorbehandlung benutzten Blutarten, auch wenn das Blut lange Zeit angetrocknet gewesen war, einen Niederschlag erzeugte. Dieser von den genannten Autoren in die Praxis eingeführte forensische Blutnachweis ist dann besonders von Uhlenhuth weiter ausgestaltet und ausgebaut worden; er konnte die verschiedensten Antisera erzeugen, um jederzeit in forensischen Fällen, wie sie ihm vorkamen, nicht nur Menschenblut, sondern auch andere Blutarten, die sich an irgendwelchen Gegenständen fanden, zu erkennen.

Es gelang ihm auch zuerst, außer getrocknetem Blut, gefaultes, gefroren gewesenes und mit verschiedenen Chemikalien versetztes Blut, unter den verschiedensten Bedingungen der Praxis in Sand, Erde, Waschwässern, Menstrualurin usw. nachzuweisen. Diese Methode, die berufen war, eine wichtige Lücke in der gerichtlichen Medizin auszufüllen, wurde

durch zahlreiche Forscher bezüglich ihrer praktischen Brauchbarkeit nachgeprüft und in allen Einzelheiten anerkannt. Die Zahl der einschlägigen Arbeiten ist zu einer umfangreichen Literatur angewachsen. Sie sind unten ausführlich zusammengestellt und werden bei der folgenden Besprechung der forensischen Methoden eingehende Berücksichtigung finden. Besonders erwähnt seien die Untersuchungen von G. Hauser, Binda, Biondi, Dieudonné, Stern, Ziemke, Praum, Mertens, St. Minovici, Ogier, Stockis, Commentz, Nuttall, Graham-Smith, Sanger, W. A. Schmidt, Leblanc, Kister, Wolff, Whittier, Whitney usw.

Der einwandfreie Beweis für die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens wurde von Uhlenhuth dadurch erbracht, daß er zahlreiche ihm vom preußischen Justizminister zur Verfügung gestellte Asservate von abgelaufenen Kriminalfällen untersuchte, ohne vorher die Herkunft der an diesen befindlichen Blutflecken zu kennen. Nach Untersuchung dieser Gegenstände wurde das von ihm abgegebene Gutachten mit den bezüglichen Aktenangaben verglichen; in jedem einzelnen Falle konnte die richtige Diagnose gestellt werden, mochte es sich nun um Menschenblut oder um das Blut von Tieren handeln. Die Methode hat in zahlreichen Prozessen der Justiz bereits wichtige Dienste geleistet. In Preußen, Baden, Württemberg, Bayern, Elsaß-Lothringen und Österreich ist sie durch justizministerielle Verfügung offiziell in die gerichtsärztliche Praxis eingeführt und wird auch im Auslande ausgiebigst angewandt.

Forensisch wichtig und zugleich naturwissenschaftlich hochinteressant ist die Beobachtung, daß bei dieser biologischen Reaktion die verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Tieren zum sichtbaren Ausdruck gelangen (Uhlenhuth, Nuttall). So gibt z. B. ein Menschenblutantiserum eine deutliche Reaktion auch im Affenblut (Uhlenhuth, Wassermann, Stern, Nuttall). Dieser biologische Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht ist allen übrigen, die aus der Paläontologie, vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte sich ergeben, würdig an die Seite zu stellen, ja er dürfte der eklatanteste und verblüffendste sein, da man ihn jedem ad oculos demonstrieren kann.

So findet die Deszendenzlehre, wie sie von Lamarck, Darwin und Haeckel begründet und aufgebaut ist, in dieser biologischen Reaktion eine sichtbare und feste Stütze.

Ähnliche Verwandtschaftsreaktionen bestehen bei Huhn und Taube (Bordet, Uhlenhuth), Pferd, Esel und Tapir (Uhlenhuth, H. Dürck, Weidanz), Fuchs und Hund, Ziege, Schaf und Rind (Uhlenhuth), Schwein und Wildschwein (Uhlenhuth), sowie auch unter den Verwandten aus der Gruppe der Krustazeen (von Dungern) und Fische (Neresheimer, Uhlenhuth, Einecker). Uhlenhuth hat daher auf Grund der vorliegenden Untersuchungen die Präzipitinmethode zum Studium der verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Tieren in Vorschlag gebracht und dabei auch die praktische Wichtigkeit dieser Methode für die Tierzüchter in bezug auf künstliche Kreuzungen hervorgehoben.

Von besonderem Interesse sind in dieser Hinsicht die umfangreichen Untersuchungen von Nuttall, welcher an 900 verschiedenen Blutsorten mit 30 verschiedenen Antiseris 16000 Reaktionen angestellt und so die verwandtschaftlichen Beziehungen in der ganzen Tierreihe eingehend studiert hat. Aus diesen Untersuchungen seien besonders

hervorgehoben die Beobachtungen, welche er an 46 Affenblutsorten angestellt hat mit dem Ergebnis, daß ein Menschenblutpräzipitinserum das Blut der Affen der Alten Welt stärker ausfällt als das Blut der Affen der Neuen Welt. Zu denselben Ergebnissen gelangte Uhlenhuth, der die verwandtschaftlichen Beziehungen sogar bis zu den Halbaffen (Lemuren) verfolgen konnte. Diese Forscher hatten somit auf biologischem Wege die Annahme bestätigt, daß die Affen der Alten Welt dem Menschen näher verwandt sind als die Affen der Neuen Welt. Je weiter also die Tiere phylogenetisch auseinander stehen, um so schwächer wird die Reaktion.

Auf die neueren Arbeiten über die Differenzierung der verwandten Blutarten von Uhlenhuth, Hamburger, Weichardt, Friedenthal a. u. wird unten in einem besonderen Abschnitt näher eingegangen werden.

Neuerdings ist die biologische Methode von Uhlenhuth, Weidanz und Angeloff auch für das Studium epidemiologischer Fragen herangezogen worden. Sie konnten bei den verschiedensten blutsaugenden Tieren (Blutegeln, Wanzen, Läusen, Flöhen, Zecken, Mücken usw.) die Herkunft des von diesen Tieren gesogenen Blutes bestimmen und so die Blutlieferanten in einfacher Weise ermitteln. Es konnte u. a. mittels dieser Methode die interessante Tatsache festgestellt werden, daß die Anophelesmücken, die Überträger der Malaria, sich häufig von Tierblut, nicht vornehmlich von Menschenblut nähren. Schweine- und Rinderblut konnte in ihrem Magen nachgewiesen werden. Ähnliche Untersuchungen dürften darüber Aufschluß geben, welche Blutlieferanten für die Glossina palpalis, den Überträger der Schlafkrankheit, und die Glossina morsitans, den Überträger der Tsetsekrankheit, in Betracht kommen.

Bei der außerordentlichen Feinheit und der Spezifität der biologischen Blutdifferenzierungsmethode lag es von vornherein nahe, diese Methode auch für die Fleischbeschau nutzbar zu machen.

Durch umfangreiche Untersuchungen hatte Uhlenhuth festgestellt, daß auch bei den verschiedensten jahrelang angetrocknet gewesenen Organen von Schweinen (Milz, Leber, Herz, Muskeln) die Reaktion noch positiv ausfiel und daß somit die Herkunft dieser Organe noch genau ermittelt werden konnte. Diese Tatsache war für ihn der Ausgangspunkt zur Ausarbeitung einer Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Fleischsorten, wie sie für die Fleischbeschau von grundlegender Bedeutung geworden ist.

Durch zahlreiche Versuche konnte gezeigt werden, daß das Serum eines mit Schweineblut vorbehandelten Kaninchens nur in einem Schweinefleischauszuge, eines mit Katzenfleisch vorbehandelten Kaninchens nur in einem Auszuge von Katzenfleisch usw. einen Niederschlag erzeugte. Es wurden dann weiterhin spezifische Sera für den Hammel- und Pferdefleischnachweis angegeben, indem gleichzeitig auf die eventuellen Verwandtschaftsreaktionen zwischen Pferde- und Eselfleisch, sowie zwischen Hammel-, Ziegen- und Rindfleisch hingewiesen wurde. Die Wichtigkeit dieser Methode für die Untersuchung von Hackfleisch auf Beimengungen von Pferde-, Hunde- und Katzenfleisch ergibt sich danach von selbst. Es wurde ferner von Uhlenhuth die für die Fleischbeschau hochwichtige Tatsache festgestellt, daß der spezifische Nachweis auch noch in Räucherwaren gelingt; so konnte selbst an jahrealten geräucherten Pferde- und Schweineschinken

die Herkunft mit Sicherheit ermittelt werden. Ebenso gelang es, durch die spezifische Reaktion die Herkunft von Pferde- und sonstigen Mettwürsten festzustellen, falls nicht die reaktionsfähigen Eiweißkörper, wie bei der Leberwurst, durch Kochen zerstört waren. Die Methode der Fleischuntersuchung, wie sie von Uhlenhuth und Jess angegeben und ausgearbeitet worden ist, fand durch weitere Arbeiten von Piorkowski, Nötel, Miessner und Herbst, von Riegler, Groening, Ruppin, W. A. Schmidt, Schütze, Weidanz und Borchmann, Schüller, Fiehe u. a. volle Anerkennung und Bestätigung. Da es mit Hilfe der bisher gebräuchlichen chemischen und physikalischen Methoden nicht gelingt, Pferdefleisch, geschweige denn Fleisch irgend eines Tieres mit Sicherheit nachzuweisen, besonders wenn es sich um Wurst und sonstige Fleischgemische handelt — wie ad hoc von Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann angestellte Untersuchungen ergeben haben — so steht zu erwarten, daß die biologische Methode in Zukunft noch mehr als bisher für die praktische Fleischbeschau an Bedeutung gewinnen wird. Für die Auslandsfleischbeschau ist das biologische Verfahren zum Nachweis von Pferdefleisch seit dem 1. April 1908 gesetzlich vorgeschrieben (Centralbl. für das Deutsche Reich 1908, pag. 59) und auch für die Inlandsfleischbeschau amtlich empfohlen (siehe die einschlägigen Verfügungen von Preußen und Württemberg siehe pag. 162).

Um zu prüfen, ob das Alter des Untersuchungsmaterials auf den Ausfall der biologischen Reaktion einen Einfluß ausübt, wurden zuerst von Uhlenhuth an ca. 40—60 Jahre alten mumifizierten Organen von Tieren und Menschen Untersuchungen angestellt; in diesen Fällen konnte er mit Hilfe des biologischen Verfahrens ihre Herkunft noch mit Sicherheit bestimmen. Da hiernach das Alter bei der Untersuchung derartigen Materials eine wesentliche Rolle nicht zu spielen schien, lag es nahe, auch die ältesten uns zur Verfügung stehenden Organe zum Gegenstand eingehender Untersuchungen zu machen. Es sind das bekanntlich die Mumien. So hat Uhlenhuth denn zuerst in Gemeinschaft mit Beumer eine mehrtausendjährige, ägyptische Mumie mit Hilfe der biologischen Reaktion untersucht, jedoch mit durchaus negativem Ergebnis.

v. Hansemann und Meyer behaupteten dagegen, daß es ihnen gelungen sei, bei den von ihnen untersuchten, 3000—5000 Jahre alten Mumien auf biologischem Wege ihre Herkunft zu bestimmen; sie kommen auf Grund ihrer Resultate zu dem Schluß, „daß die Präzipitinreaktion selbst für mehrtausendjähriges Material nicht an Wirksamkeit verliert und daß sich durch die biologische Methode der menschliche Ursprung von Mumienmaterial nachweisen läßt".

Auf Grund dieser Behauptung wurden von Uhlenhuth die früheren Untersuchungen in dieser Richtung an 27 ägyptischen und peruanischen Mumien wieder aufgenommen, aber in keinem Falle, auch bei Anwendung der allerhochwertigsten Sera, erhielt er ein positives Resultat. Auch bei einer nur 300 Jahre alten Mumie erzielte Uhlenhuth ein negatives Ergebnis.

Ebenso ließ sich nach dem Vorgange von Beumer und Schütze — die die Herkunft von Menschen- und Tierknochen, falls an ihnen noch lösliches Eiweiß vorhanden war, mittels der biologischen Methode bestimmen konnten — aus den alten Mumienknochen reaktionsfähiges Material nicht mehr extrahieren. Aus diesen Untersuchungen schloß

Uhlenhuth, daß es im allgemeinen nicht gelingt, derartige mehrtausendjährige Mumien und prähistorische Knochenreste ihrer Herkunft nach zu bestimmen. Ob der negative Ausfall dadurch bedingt ist, daß die Eiweißsubstanzen infolge der Jahrtausende hindurch wirkenden äußeren Einflüsse erhebliche Schädigungen erlitten haben, oder daß die Eiweißkörper durch das sogenannte „Balsamieren" unlöslich geworden sind, entzieht sich bis jetzt noch unserer Beurteilung (s. unten).

Die Ergebnisse Uhlenhuths sind dann durch die ausgezeichneten Untersuchungen von W. A. Schmidt-Kairo bestätigt worden. Diesem Forscher gelang es, in zahlreichen, bis zu 6000 Jahre alten Mumien mit Hilfe der Biuretreaktion chemisch Eiweiß nachzuweisen; trotzdem erhielt er mit diesem keine Präzipitinreaktion, selbst wenn er ein nach seinem Verfahren hergestelltes menschliches Muskeleiweißantiserum benutzte. Er erklärt die auffallende Tatsache durch die Feststellung, daß diese von ihm nachgewiesenen Eiweißstoffe albumosenartige Körper seien und daß von echten koagulierbaren Eiweißstoffen nur Spuren darin vorhanden sind. Er glaubt mit aus Mumienextrakten selbst hergestellten Antiseris vielleicht zum Ziele zu kommen. Nach seinen Angaben kann von „Balsamieren" bei den prähistorischen Mumien keine Rede sein, da man ein derartiges Verfahren damals noch nicht kannte.

Wie wir noch sehen werden, ist es nun neuerdings Uhlenhuth und Haendel in einigen Fällen gelungen, mit Hilfe der Anaphylaxiereaktion die Herkunft des Mumieneiweißes zu bestimmen. Die Präzipitinreaktion war in diesen Fällen negativ.

Die Untersuchungen von Uhlenhuth, Wassermann und Schütze hatten gezeigt, daß ein mit Menschenblut vorbehandeltes Kaninchen ein Serum liefert, das auch in allen möglichen eiweißhaltigen Organsäften des Menschen eine Präzipitinreaktion hervorruft. Es war das ja auch von vornherein anzunehmen, da in diesen Substraten Bluteiweiß vorhanden ist. So ist zuerst von Uhlenhuth, dann von Biondi, Strube und Schütze darauf hingewiesen, daß das Menschenantiserum auch in menschlichem Sperma, wenn auch eine schwächere Reaktion wie im Blut, so doch eine deutliche Trübung hervorruft. Ebenso fällt die Reaktion in eitrigem Sputum positiv aus (Uhlenhuth). In verschiedenen auf Leinwand angetrockneten Auswürfen von Influenzakranken und Pneumonikern wurde eine deutliche Reaktion erzielt, desgleichen in eitrigem Urin und Sekreten, die von Blasenkatarrhen herrührten und in angetrockneten Trippersekreten (Uhlenhuth). Mertens hat die Reaktion auch in eiweißhaltigem Urin erhalten, ebenso ist es bekannt, daß sie in Hydrozelen- und Aszitesflüssigkeit positiv ausfällt. In normalem Urin, Schweiß, sowie Tränenflüssigkeit haben wir eine positive Reaktion nicht beobachtet.

Diese Tatsachen sind in der forensischen Praxis wohl zu beachten, zumal dann, wenn es nicht gelingt, auf chemischem Wege den Nachweis von Blut zu erbringen. Man wird in solchen Fällen nur aussagen können, daß es sich um menschliches Eiweiß handelt, eventl. wird man bei spermaverdächtigen Flecken durch Anwendung der mikroskopischen Untersuchung und Anstellung der Florenceschen Reaktion das Vorhandensein von Sperma nachweisen können. Nun schien es aber doch geboten, einmal näher zu prüfen, ob nicht doch gewisse Differenzen zwischen dem Bluteiweiß und dem Eiweiß verschiedener Organe beständen. Daß eine Differenzierung verschiedener Eiweißstoffe einer Spezies bis zu einem gewissen Grade überhaupt möglich war, hatten schon die oben erwähnten Versuche von Uhlenhuth bewiesen, nach denen es gelang,

die Eiweißkörper des Hühnereies und des Hühnerblutes zu unterscheiden. Uhlenhuth ist dann dieser Frage der Eiweißdifferenzierung bei ein und demselben Tiere in weiteren Untersuchungen noch etwas näher getreten. Es veranlaßte ihn hierzu auch die interessante Angabe von Hamburger bezüglich der Eiweißkörper der Kuhmilch. Dieser Autor filtrierte Milch durch Tonfilter und trennte mit Hilfe dieser von Schlossmann angegebenen Methode das Albumin von dem Kasein, indem nur das erstere den Filter passiert. Mit beiden auf diese Weise getrennten Eiweißlösungen immunisierte er Kaninchen und erhielt so ein albumin- und ein kaseinpräzipitierendes Serum, welches jedes für sich nur die zugehörige Eiweißlösung ausfällte. Jedoch fällte eins der Albuminseren auch die Kaseinlösung; die zu den Injektionen gebrauchte Albuminlösung war allerdings in diesem Falle durch Ausfällung des Kaseins mit Essigsäure und Neutralisation des Filtrates mit Kalilauge gewonnen. Für die Eiweißkörper der Kuhmilch waren diese Sera also im allgemeinen spezifisch, so daß sich mit demselben Kasein und Albumin desselben Substrates eines und desselben Tieres differenzieren ließen. Jedoch gaben beide Sera auch eine Reaktion in Rinderblutlösung; eine Tatsache, die besonders auffallend sein mußte, da ja nach unseren bisherigen Kenntnissen im Blute Kasein nicht vorkommt. Auch gewöhnliche Laktosera geben eine Reaktion in dem homologen Blut (Halban und Landsteiner) und auch mit Sperma (Schütze).

Umgekehrt konnte Meyer feststellen, daß durch Injektion von Rinderblutserum gewonnene Antisera in Kuhmilch keine Fällung hervorriefen. Nach Uhlenhuths und Schützes Untersuchungen geben sehr hochwertige Rinderblutantisera allerdings doch eine leichte Reaktion in der Kuhmilch, doch ist dieselbe nur äußerst schwach und mit der spezifischen Fällung nicht im entferntesten zu verwechseln. Zu gleichen Ergebnissen kamen Halban und Landsteiner, welche fanden, daß Menschenantisera auch eine Reaktion in Menschenmilch geben.

Man versuchte weiterhin festzustellen, ob eine biologische Differenzierung der durch fraktionierte Ausfällung gewonnenen, chemisch reinen differenten Eiweißkörper möglich sei.

Leblanc und Ide glaubten experimentell erwiesen zu haben, daß durch Vorbehandlung mit Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin des Rinderblutserums streng spezifische, nur auf die entsprechenden Eiweißkörper wirkende Präzipitine entstehen. Nach den Untersuchungen von Obermeyer und Pick, Rostoski, Umber, Oppenheimer, L. Michaelis, Landsteiner und Calvo gelingt es jedoch nicht, derartige spezifische Antikörper zu erzeugen; so war es ihnen nicht möglich, die chemisch rein dargestellten differenten Eiweißkörper des Hühnereies voneinander zu unterscheiden, ebensowenig die aus Pferdeblutserum dargestellten chemisch reinen Eiweißkörper. Nach Ansicht von Uhlenhuth sind diese Ergebnisse darauf zurückzuführen, daß die chemischen Methoden der Reindarstellung der Eiweißkörper bisher noch nicht als vollkommen einwandfrei anzusehen sind. Denn es ist ohne weiteres klar, daß man nur dann völlig einwandfreie Resultate erzielen kann, wenn man sicher ist, daß die zur Vorbehandlung der Versuchstiere benutzten Eiweißkörper auch wirklich absolut reine Eiweißkörper darstellen.

Nach dieser Richtung hin dürften vielleicht die von Emil Fischer ins Leben gerufenen Forschungen auf dem Gebiete der Eiweißchemie

geeignet sein, Klärung herbeizuführen. Gelingt es doch nunmehr erst mit den Bausteinen des Eiweißes in exakter Weise zu arbeiten.

Für das Studium des Wesens der Eiweißpräzipitine ist es beachtenswert, daß, wie Weichardt gezeigt hat, aus ein und derselben Eiweißart mittels chemisch differenter Behandlung zwei in Form einer Präzipitinreaktion aufeinander wirkende Substanzen dargestellt werden können, das Kenopräzipitin und die kenopräzipitable Substanz.

Es konnte nachgewiesen werden, daß diese Präzipitinreaktion eine anorganische Fällung nicht ist. Sie zeigt die Charakteristika der Spezifität, obschon sie mit der Artspezifität des Eiweißes nichts zu tun hat.

Ascoli wandte die sogenannte Absättigungsmethode an, auf die unten näher eingegangen werden soll. Er konnte feststellen, daß durch verschiedene Eiweißfraktionen einer Serumart gewonnene Immunsera durch Zusatz der spezifischen Fraktion vollkommen „abgesättigt" oder „erschöpft" werden, daß aber der Zusatz einer anderen Fraktion nur eine teilweise Absättigung hervorzurufen imstande ist. Über ganz ähnliche Erfahrungen berichtet Michaelis. Ascoli benutzte zur Behandlung verschiedener Kaninchen teils Pferdevollserum, teils isolierte Eiweißkörper desselben, und zwar Lösungen von Euglobulin, Pseudoglobulin und 2 Albumosen. Die so hergestellten präzipitierenden Sera erzeugten sämtlich einen Niederschlag in allen erwähnten Lösungen. Bei Anwendung der Absorptionsmethode ergab sich jedoch folgendes:

Wurde das Vollserum-Präzipitinserum nach maximaler Ausfällung mit Euglobulin-Pseudoglobulin- bzw. einer der beiden Arten von Albuminlösungen abgesättigt, so löste der Zusatz einer neuen Menge derselben Lösung keine weitere Reaktion im klaren Zentrifugat aus, während dagegen ein entsprechender Zusatz von jeder der drei übrigen Eiweißlösungen oder von Vollserum einen neuen Niederschlag erzeugte. Das Serum eines Kaninchens, welches mit Euglobulin-, Pseudoglobulin- bzw. Albuminlösungen behandelt worden war, gab nach Ausfällung mit einer der heterologen Lösungen mit der homologen Lösung oder mit Vollserum einen weiteren Niederschlag, nach primärem Zusatz von homologer Lösung (in passender Menge) konnte dagegen überhaupt keine weitere Reaktion mehr ausgelöst werden.

Michaelis berichtet über ganz analoge Resultate. Er versetzte ein Vollserum-Immunserum bis zu maximaler Reaktion mit Euglobulinlösung und erhielt nach Absättigung einen weiteren Niederschlag mit Pseudoglobulinlösung bzw. Albuminlösung, nicht aber mit Euglobulin. Auch Bertarelli konnte durch spezifische Absorption Unterschiede zwischen den Präzipitinen für Serumglobulin bzw. Serumalbumin nachweisen. Zu den entgegengesetzten Resultaten sind jedoch Obermeyer und Pick gelangt, so daß man heute die Frage, ob es mit Hilfe der Präzipitinmethode auf dem Wege der elektiven Absättigung gelingt, die chemisch differenten Eiweißkörper einer Serumart voneinander zu differenzieren, als noch nicht entschieden betrachten muß.

Ist eine einwandfreie biologische Differenzierung der chemisch isolierbaren Eiweißkörper bisher nicht gelungen, so ist eine solche aber nach den übereinstimmenden Angaben der Autoren bei gewissen Organeiweißsubstanzen eines und desselben Individuums wohl möglich.

Voraussetzung bei diesen Untersuchungen ist aber, daß man, um mit reinem Organeiweiß arbeiten zu können, vorher die Gewebe oder

Zellen der in Frage kommenden Organe von den anhaftenden Bestandteilen des Serums befreit. Eine Differenzierung von Hühnereiklar und Blut, die ja für sich isolierbar sind, war UHLENHUTH bis zu einem gewissen Grade gelungen. Er bediente sich bei seinen weiteren Untersuchungen der Eiweißkörper des Hühnereies, denn hier lassen sich die beiden spezifischen auch chemisch in gewisser Weise differenten Eiweißsubstanzen, das Eiklar und das Eidotter, leicht und sicher voneinander trennen.

Das Eiklar besteht bekanntlich aus Albuminen und Globulinen, während das Eidotter vornehmlich einen nukleinartigen Körper, Lecithin und Vitellin, enthält.

Es wurden Kaninchen in der bekannten Weise mit einer verdünnten Dotterlösung vorbehandelt.

Nach mehreren Injektionen erhielt UHLENHUTH ein hochwirksames Dotterantiserum. Um ganz sicher zu sein, das Dotter ohne die geringste Beimengung von Eiweiß zur Vorbehandlung der Tiere zu benutzen, ließ er das Eigelb nach Abgießen des Eiklars in einem mit flüssiger Gelatine gefüllten Wasserglase in der Gelatine erstarren und konnte so nach dem Entfernen der obersten Gelatineschicht das Dotter mit einer Pipette völlig isoliert gewinnen.

Mit einem solchen Dotterantiserum war es nun ein leichtes, die Eiweißstoffe des Dotters und des Eiklars eines und desselben Eies mit Sicherheit voneinander zu unterscheiden, denn bei gleichem Zusatz eines solchen Serums zu gleichmäßig stark verdünnten Dotter- und Eiklarlösungen trat im Dotter selbst bei Verdünnungen von 1 : 4000 sofort eine deutliche Trübung auf, während die Eiklarlösung auch bei Konzentration von 1 : 50 vollständig unverändert klar blieb. Selbst bei sehr starken Konzentrationen von 1 : 10 und einem Serumzusatz von 1 : 5 konnte auch erst bei stundenlangem Stehen der Röhrchen in den Eiklarlösungen eine ganz leichte Trübung beobachtet werden, so daß sie bei der Differenzierung von Dotter und Eiklar völlig außer acht gelassen werden konnte.

Es geht aus diesen Versuchen zur Evidenz hervor, daß in demselben Ei die chemisch differenten Eiweißstoffe auch biologisch voneinander zu unterscheiden sind.

Es muß aber betont werden, daß das Hühnerdotterantiserum eine Trübung auch in einer Hühnerblutlösung hervorruft, jedoch ist dieselbe, wie man bei genauem quantitativen Arbeiten leicht feststellen kann, erheblich schwächer als im Dottereiweiß. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen KLUCK und INADA.

Auch das Enten- und Gänsedotter wird durch Hühnerdottersernm in erheblichem Grade präzipitierend ausgefällt, so daß man nicht imstande ist, das Dotter dieser Vögel mit Sicherheit vom Hühnerdotter zu differenzieren. Taubendotter zeigte eine ganz schwache Reaktion.

Ähnlich verhielten sich die Blutlösungen dieser Vögel, indem auch sie entsprechend der näheren oder entfernteren Verwandtschaft mit dem Huhne stärkere oder schwächere Reaktionen aufwiesen.

Das Dotterantiserum ist zur praktischen Anwendung für die Nahrungsmittelchemie von UHLENHUTH und OTTOLENGHI unabhängig voneinander in Vorschlag gebracht worden, und es eignet sich für die Praxis in hohem Maße, da Bluteiweiß ja von vornherein wohl ausgeschlossen werden kann, und es weiterhin auch nur darauf ankommt, Dottereiweiß als solches nachzuweisen, während die Frage weniger interessiert, ob dieses nun vom

Huhn, der Ente oder von der Gans herstammt. Uhlenhuth und Schütze haben mit dem Dotterantiserum Eigelbmargarine des Handels auf ihren Eigelbgehalt mit Erfolg untersucht. Die Margarine wird erwärmt und mit phys. NaCl-Lösung behufs Auflösung des Eigelbs ausgeschüttelt; die so gewonnene Flüssigkeit wird mit Dotterantiserum versetzt.

Ein weiteres sehr günstiges Untersuchungsmaterial für die Entscheidung der uns interessierenden Frage schien in den Eiweißkörpern tierischer Augen gegeben zu sein. Auch hier liegen — ähnlich wie im Ei — im Raume eng zusammen die chemisch sehr differenten Eiweißkörper des Glaskörpers und der Kristalllinse. Letztere bestehen bekanntlich zum größten Teil aus Globulinen und Vitellin, während erstere einen dem Mucin nahestehenden Eiweißkörper enthalten. Die chemische Differenz demonstriert uns die Kochprobe sofort in eklatanter Weise, denn während die Linseneiweißlösungen beim Kochen gerinnen, zeigen die des Glaskörpers keine sinnfälligen Veränderungen.

Uhlenhuth wurde auch noch durch eine andere Beobachtung auf diese Eiweißkörper aufmerksam gemacht.

Es ist, wie er feststellen konnte, die Kristallinse der einzige bis jetzt bekannte tierische Eiweißkörper, welcher mit einem Blutantiserum keine Reaktion gibt. Selbst die allerhochwertigsten Menschen-, Rinder-, Schweine- und Hammelblutantisera geben zu einer mit physiol. NaCl-Lösung hergestellten Linsenauflösung der zugehörigen Tiere hinzugesetzt nicht die geringste Trübung, während andererseits in Glaskörperlösungen und Kammerwasser sehr deutliche Reaktionen auftreten. Schon daraus geht hervor, daß Glaskörper resp. Kammerwasser und Linsen auch biologisch verschiedene Eiweißkörper enthalten müssen. Man ist also mit Hilfe eines Blutantiserums imstande, Glaskörper resp. Kammerwassereiweiß und Linseneiweiß zu differenzieren und andererseits auch zu beweisen, daß die Eiweißkörper des Blutes und der Linse, also zwei Eiweißkörper desselben Tieres, sich auf biologischem Wege voneinander unterscheiden lassen.

Um nun diese Frage noch weiter zu studieren, erzeugte Uhlenhuth durch wiederholte intravenöse Einspritzungen von Rinderlinsenlösungen bei Kaninchen ein spezifisches Antiserum. Zu diesem Zweck entnahm er unter aseptischen Kautelen die Linsen aus den Augen des Kalbes. Um ganz sicher die Linsensubstanz zu isolieren, entfernte er die äußerste weiche Kapselschicht, so daß er das innere Linsengewebe, den Linsenkern, vor sich hatte. Diesen zerkleinerte er mit sterilen Pinzetten, indem er ihn zerquetschte und übergoß dieses zerquetschte Gewebe in sterilen Erlenmeyerschen Kolben mit steriler physiologischer NaCl-Lösung. Nach mehrstündigem Stehen unter häufigem Umschütteln war eine genügend starke Lösung der Eiweißstoffe eingetreten, so daß sie nunmehr zur Einspritzung der Kaninchen verwendet werden konnte. Uhlenhuth stieß dabei auf erhebliche Schwierigkeiten, indem es ihm zuerst gar nicht gelingen wollte, hochwertige Sera zu erzielen.

Erst nach längeren vergeblichen Versuchen bekam er hochwertige Antisera. Diese Linsenantisera hatten nun folgende Eigenschaften:

Setzte man zu 2,0 ccm stark verdünnter Lösungen von Rinderlinsensubstanz, die beim Schütteln ziemlich starke Schaumbildung und beim Kochen mit Salpetersäure eine leichte Trübung zeigten, 0,1 ccm von dem Linsenantiserum, so trat momentan eine starke wolkige Bodentrübung auf. In einer ziemlich konzentrierten Lösung von Glaskörper-

flüssigkeit war selbst nach einstündiger Beobachtung eine Trübung nicht zu konstatieren. Erst beim Zusatz von großen Quantitäten des Linsenantiserums zu einer konzentrierten Glaskörper-Eiweißlösung trat nach einstündiger Beobachtung eine ganz schwache leichte Reaktion auf.

Es waren also die Eiweißkörper der Linse und des Glaskörpers in einer außerordentlich scharfen und eklatanten Weise auf biologischem Wege zu unterscheiden, so daß ein Zweifel an der Differenzierungsmöglichkeit dieser beiden Stoffe nicht im entferntesten aufkommen konnte.

Zu Blut- oder Serumlösungen vom Rind hinzugesetzt, zeigte sich nicht die geringste Reaktion selbst in 1 : 10 verdünnten Lösungen und bei einem Serumzusatz von 1 : 10. Ebensowenig erzielte Uhlenhuth eine Reaktion in Sperma-, Fleisch- und Organlösungen vom Rind oder anderen Sekreten des Rindes, z. B. auch nicht in Lösungen von Hornhautgewebe; ebensowenig in Kuhmilch, die ja, wie auch die Linse, ein epitheliales Substrat darstellt, auch nicht in Eiweißlösungen anderer Tiere. Dotterlösungen, die ja auch Vitellin enthalten, reagierten in keiner Weise.

Auf Grund dieser Ergebnisse war der Beweis erbracht, daß man auch die Eiweißstoffe der Linse nicht nur von denen des Glaskörpers und Kammerwassers, sondern von denen des Blutes und der anderen Organe, also Eiweißstoffe eines und desselben Tieres mit aller Sicherheit voneinander unterscheiden kann.

Das Studium dieses Linsenantiserums führte nun, wie wir in diesem Zusammenhang erwähnen müssen, weiterhin zu einem sehr merkwürdigen interessanten Ergebnis. Es zeigte sich nämlich, daß dasselbe auch in Linsenlösungen anderer Tiere eine sehr starke Reaktion auslöste. Uhlenhuth stellte sich gleichstarke Lösungen der verschiedensten Säugetierlinsen her, und zwar so, daß sie beim Kochen mit Salpetersäure eben eine leichte Trübung ergaben, und zwar vom Mensch, Pferd, Hammel, Schwein, Reh, Meerschweinchen, Maus, Ratte, Igel.

In allen diesen Lösungen von frischen, wie auch von angetrockneten Linsen trat bei Zusatz von 0,1 ccm Antiserum eine fast momentane Reaktion auf, die von der in der Rinderlinse auftretenden quantitativ und qualitativ nicht zu unterscheiden war. Ja, auch zu Lösungen von Kaninchenlinsen hinzugesetzt, trat mit diesem auf Rinderlinse eingestellten Kaninchenantiserum eine ebenso starke Reaktion auf wie in den übrigen Eiweißlösungen. Es sei als sehr interessante Beobachtung hervorgehoben, daß das durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Rinderlinse gewonnene Antiserum selbst in Lösungen von Linseneiweiß desselben, das Antiserum liefernden Kaninchens eine momentane starke Fällung hervorruft. Es kreisen also in dem Blute des Kaninchens Stoffe, welche das eigene Linseneiweiß im Reagenzglase ausfällen. Ein Katarakt ist — wie man das annehmen könnte — bisher nicht beobachtet. Auch ist es in vielfachen Versuchen Uhlenhuth, Weidanz und Trommsdorff nicht gelungen, von Kaninchen durch Einspritzungen von Kaninchenlinseneiweiß präzipitierende Sera zu gewinnen. Uhlenhuth prüfte nun weiterhin verschiedene Vogellinsen vom Huhn, Ente, Taube, Eule, Sperling; auch in ihnen war eine nicht merklich verschiedene Reaktion zu verzeichnen. Auch die Linsen der Frösche sowie auch der Kreuzottern gaben eine recht deutliche, allerdings etwas schwächere Trübung bei Zusatz des Linsenantiserums.

Anders verhielten sich die Linsen der Fische. Schon äußerlich zeigen sie gewisse Besonderheiten, denn während die Linsen der Säuge-

tiere, Vögel, Amphibien und Reptilien verhältnismäßig weiche Gebilde darstellen, sind die der Fische sehr hart und lösen sich nur sehr langsam in 0,85%iger Kochsalzlösung. Nach längerer Zeit erhielt Uhlenhuth jedoch auch aus ihnen eiweißhaltige Flüssigkeiten, welche genügend Eiweiß enthielten. Die Linsen stammten von folgenden Fischen: Hecht, Barsch, Kaulbarsch, Flunder, Hering, Aal, Plötz, Steinbutt, Hornfisch. Setzte Uhlenhuth nun zu solchen Lösungen, die, wie die Kochprobe und der Salpetersäurezusatz ergaben, ungefähr dieselbe Konzentration zeigten wie die der Säugetiere, Vögel und Frösche, Linsenantiserum hinzu, so blieben diese Lösungen zunächst vollkommen klar.

Erst bei stärkerem Serumzusatz und stundenlangem Stehen waren kaum merkliche Bodentrübungen wahrzunehmen.

Auf Grund dieser Untersuchungen muß man annehmen, daß die Linsen der Säugetiere, Vögel und Amphibien zum Teil gleichartige Eiweißsubstanzen enthalten, die sich in ganz minimalen Spuren auch in denen der Fische nachweisen lassen.

Man ist also mit Hilfe eines hochwertigen Linsenantiserums nicht imstande, das Linseneiweiß der Säugetiere, Vögel und Amphibien mit Sicherheit zu unterscheiden, resp. ihrer Herkunft nach zu bestimmen, eine Tatsache, die der bisher gültigen Gesetzmäßigkeit der biologischen Eiweißdifferenzierungsmethode zu widersprechen scheint.

Wenn wir nach einer Erklärung für diese merkwürdige Tatsache suchen, so dürfte eine solche schwer zu finden sein; doch muß man berücksichtigen, daß die Linse ein Organ ist, welches verhältnismäßig selbständig geworden ist, schon dadurch, daß es der Zufuhr des für die betreffende Tierart so spezifischen Bluteiweißes entbehrt. Andererseits wäre es denkbar, daß diese Gleichmäßigkeit der Zusammensetzung zum Teil vielleicht in der äußerst feinen optischen Funktion der Linsen begründet ist.

Wenn wir das aus Uhlenhuths Arbeit resultierende neue Versuchsergebnis kurz zusammenfassen, so müssen wir sagen, daß die biologische Eiweißdifferenzierungsmethode nicht nur die Eiweißstoffe verschiedener Tiere — abgesehen vom Linseneiweiß — zu unterscheiden gestattet, sondern mit gewissen Einschränkungen auch bestimmte Eiweißsubstrate eines und desselben Organismus.

Diese Untersuchungen sind von P. Roemer bestätigt worden, der sie zur Grundlage einer spezifischen Behandlung des Kataraktes gemacht hat, indem er die der Menschenlinse biologisch gleichwertige Rinderlinse therapeutisch verwertet.

Auch mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion (s. unten) konnten diese Untersuchungen bestätigt werden (Kraus, Doerr, Sohma, Uhlenhuth, Andrejew). Als interessante Tatsache verdient hervorgehoben zu werden, daß Meerschweinchen selbst gegen ihre eigene Linse anaphylaktisch gemacht werden können (Uhlenhuth, Haendel, Andrejew).

Weitere Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage der Differenzierung von Serum- und Erythrozyteneiweiß. Im Gegensatz zu Nolf gelang es Centanni, Ford, Nagelschmidt und A. Klein Präzipitine gegen das Eiweiß roter Blutkörperchen zu erzeugen.

A. Klein hat dann diese Frage weiterhin eingehend studiert. Er konnte feststellen, daß die nach Einspritzung von Erythrozytenextrakten verschiedener Tiergattungen auftretenden Präzipitine spezifisch sind, d. h. Niederschläge nur in Erythrozytenextrakten derjenigen Tiergattung hervorriefen, welche zu ihrer Erzeugung benutzt worden waren.

So geben durch Pferdeerythrozyten gewonnene Erythropräzipitine nur in Pferdeerythrozytenextrakt, durch Rindererythrozyten erzeugte nur in Rindererythrozytenextrakt, und durch Menschenerythrozyten erzeugte nur in Menschenerythrozytenextrakt einen Niederschlag, in den zugehörigen Blutseris treten dagegen Niederschläge nicht auf. Umgekehrt waren die Serumpräzipitine im allgemeinen nur für Serumeiweiß spezifisch.

Die Erythrozytenextrakte wurden nach A. Klein in folgender Weise hergestellt:

Mehrmals gewaschene, zentrifugierte und durch Abpipettieren von der darüber stehenden Kochsalzlösung befreite rote Blutkörperchen wurden mit der vierfachen Menge destillierten Wassers zerstört. Diese lackfarbene Lösung wurde dann durch Zusatz von 8,5 %iger Kochsalzlösung (im Verhältnis von 1 : 9) auf phys. Kochsalzgehalt gebracht und hierauf solange zentrifugiert, bis die — durch den Kochsalzgehalt sofort trüber werdende — Lösung vollkommen klar (stromatafrei!) geworden war.

Diese beiden Postulate (entsprechender Kochsalzgehalt und vollständige Abzentrifugierung der Stromata) müssen auch vor der Prüfung der Erythrozytenextrakte mit den Immunseris streng eingehalten werden, da destilliertes Wasser im Immunserum Niederschläge (Euglobulin) hervorrufen kann (Uhlenhuth), andererseits durch Agglutination von Stromata, die in den zu prüfenden Erythrozytenextrakten noch enthalten sind, leicht Niederschläge vorgetäuscht werden können.

Ob auch in andern Se- und Exkreten mit solchem Erythropräzipitin keine Niederschläge erzeugt werden, ist von A. Klein nicht genauer geprüft worden. Er ist aber der Meinung, daß das wohl nicht der Fall sein dürfte und daß solche Erythropräzipitine in der Tat geeignet sind, den Nachweis von Blut als solchem zu erbringen, was ja mit Hilfe der Serumpräzipitine nicht gelingt. Er meint daher, man könnte bei Anwendung der Erythropräzipitine in der forensischen Praxis eventuell auf den chemischen Nachweis von Blut verzichten.

Weitere in Aussicht gestellte Untersuchungen über diese wichtige Frage sind nicht bekannt geworden.

Wir selbst haben uns auch mit dieser Frage beschäftigt und konnten feststellen, daß die Serumpräzipitine und Erythropräzipitine wenn auch nicht vollkommen, so doch ziemlich streng spezifisch sind. Wenigstens haben wir mit Serumpräzipitinen, wenn das zur Immunisierung verwendete Serum nicht hämoglobinhaltig war, in gewaschenem aufgelösten Blut keine deutliche Reaktion wahrnehmen können. Doch sei bemerkt, daß die Lösung des aufgelösten Blutes sich bei der Salpetersäurekochprobe stets als recht eiweißarm erwies. Trotz zahlreicher Versuche ist es aber nicht gelungen, hochwertige Erythropräzipitine herzustellen. Offenbar reagieren die Kaninchen nur äußerst schlecht auf die Einspritzung von Hämoglobineiweiß, ähnlich wie wir das beim Linseneiweiß kennen gelernt haben.

Wir sind daher der Ansicht, daß die Erythropräzipitine für die Praxis keine große Bedeutung erlangen werden.

In jüngster Zeit will es C. Bruck unter Verwendung schwacher, zellspezifischer Sera mit Hilfe der Komplementablenkung gelungen sein, selbst bei angetrockneten Flecken die verschiedenen Eiweißkörper (Blut, Eiter, Sperma) eines Individuums zu differenzieren. Wir konnten uns davon nicht recht überzeugen.

Mit Hilfe der elektiven Absättigung war es dann möglich, Antisera zu gewinnen, die nur mit den homologen, nicht aber

mit den Zellextrakten anderer Organe desselben Individuums Präzipitate lieferten. Auf diese Weise gelang es Weichardt und Liepmann, von einem Kaninchen, welches mit menschlichem Synzytialzelleneiweiß vorbehandelt war, ein Serum zu gewinnen, das nach Absättigung mit menschlichem Blut nur in Synzytialzelleneiweiß einen Niederschlag hervorrief.

Maragliano benutzte das Magenspülwasser von Karzinomatösen, das nach Salomon Geschwulsteiweiß enthielt, zur Vorbehandlung von Kaninchen. Das gewonnene Immunserum wurde mit normalem Menschenserum abgesättigt und soll sich dann als spezifisch für Karzinomeiweiß erwiesen haben. Strube versuchte durch elektive Absättigung menschliches Sperma zu identifizieren, Mertens das Serum von Gesunden und Karzinomatösen zu unterscheiden. Sehr wichtig und interessant sind in dieser Beziehung die Untersuchungen von Forssner, auf die wir hier näher eingehen müssen.

Er behandelte je zwei Kaninchen mit Blutserum, Leber- und Nierenemulsion und eins mit Milzemulsion vom Meerschweinchen.

Er ging folgendermaßen vor:

Nach Einführen einer Glaskanüle in die Karotis und Eröffnen der einen Vena jug. int. spülte er das Gefäßsystem eines Meerschweinchens mit phys. Kochsalzlösung durch bis das Spülwasser ganz klar war; die beiden Nieren, ein entsprechend großes Stück von der Leber und die Milz wurden in sterilen, überdeckten Mörsern mit Sand verrieben, in $^1/_2$ pro Mille Ammoniak (um eine bessere Lösung der Eiweißkörper zu erhalten) unter kräftigem Umrühren aufgeschwemmt. Nach Filtrieren durch doppelte Gaze spritzte er die Milzemulsion und je eine Hälfte der Leber- resp. Nierenemulsion je einem Kaninchen intraperitoneal ein; das Blutserum wurde in Dosen von 6—10 ccm ebenfalls ins Peritoneum injiziert und die verschiedenen Injektionen wurden wöchentlich einmal wiederholt. Um die für die Anstellung der Reaktion notwendigen klaren Organlösungen zu erhalten, zerrieb er die Organe mit einer viel größeren Menge $^1/_2$ pro Mille Ammoniak und zwar die Milz mit 12 ccm, eine Niere bzw. ein etwa nierengroßes Leberstück mit 30 ccm, filtrierte durch doppeltes Filtrierpapier und zentrifugierte das Filtrat.

Durch entsprechende elektive Absättigung erzielte er folgende Ergebnisse:

1. Es gelingt, durch die biologische Methode mit in derselben Weise hergestellten Lösungen Leber- und Nierenproben und das Blutserum von Meerschweinchen voneinander zu unterscheiden. (Ob dasselbe auch für Milzlösungen gilt, läßt er dahingestellt).

2. Injektionen von Leberextrakt von Meerschweinchen erzeugen im Serum der behandelten Kaninchen verschiedene Partialpräzipitine, einige von denselben reagieren sowohl mit Blutserum, Nieren- und Milzextrakt als mit Leberextrakt von Meerschweinchen, andere nicht mit Milzextrakt oder Blutserum, wohl aber mit Nieren- und Leberextrakt, noch andere sind für Leberextrakte streng spezifisch.

3. Die durch Injektion mit Nierenextrakt gewonnenen Präzipitine zeigen mutatis mutandis ganz das gleiche Verhältnis, d. h. ein Teil der Präzipitine ist für alle vier obengenannten Lösungen, ein anderer Teil für das Leber- und Nierenextrakt gemeinsam, ein dritter ist aber für das letzte streng spezifisch.

Ob der Teil von den bei Injektion von Leber- bzw. Milzemulsionen gewonnenen Präzipitinen, welcher auch mit Normalserum reagierte, wirk-

lich durch das Leber- bzw. Nierengewebe erzeugt worden sind oder vielmehr durch die Spur von Blutserum, die trotz aller Vorsicht noch mit den Emulsionen eingespritzt worden sind, ließ sich nicht mit Sicherheit entscheiden, jedoch ist zu bemerken, daß dieselben durch alle drei Organextrakte sehr leicht abgesättigt wurden, obgleich das diesen Lösungen — die weit mehr verdünnt waren als die injizierten Emulsionen — beigemengte Blutserum, wenn überhaupt vorhanden, außerordentlich stark verdünnt gewesen sein muß.

4. Die durch Injektion von Milzextrakt erzeugten Präzipitine reagierten jedenfalls deutlich stärker mit Milzextrakt als mit Leber- und Nierenextrakt.

5. Ein geringer Teil von den mit Blutserum gewonnenen Präzipitinen reagierte auch mit Organextrakten, ein weit größerer Teil derselben war aber für das Blutserum streng spezifisch. — Daß die Fällungen mit den Organextrakten von einer in denselben vorhandenen Menge vom Blutserum verursacht wurden, läßt sich wohl kaum ausschließen.

6. Die Leber und die Nieren scheinen mehr gemeinsame Bestandteile zu haben als die Leber und Milz, bzw. die Nieren und die Milz.

In ähnlicher Richtung bewegen sich die Untersuchungen von Grund. Diese hatten zum Ziel die regionäre Spezifität in denjenigen Teilen des Körpers zu verfolgen, die ihrer Funktion nach die wichtigsten, ihrer Masse nach die am leichtesten zugänglichen zu sein schienen; er verwandte daher Blut, Leber, Nieren, Milz und Muskeleiweiß und zwar vom Rind und vom Menschen.

Er spritzte die Organe nicht in Gestalt von Aufschwemmungen oder Extrakten ein, sondern als Preßsäfte, die nach Verreiben mit Kieselgur unter einem Druck von 300 Atmosphären in der Buchnerschen Presse gewonnen worden waren. Der Vorteil dieser Methodik besteht darin, daß alle physiologischen Eiweißkörper besser ausgenutzt werden, als die beste Extraktion es ermöglicht. Der Eiweißgehalt schwankte zwischen $4^1/_2$ bis $11^1/_2$ %. Auch wurden die Eiweißkörper durch keine chemischen Zusätze (Ammoniak) geschädigt; ferner werden die Preßsäfte durch Abzentrifugieren geringer Kieselgurreste vollkommen klar.

Mit Hilfe der spezifischen Absättigung war er, ebenso wie Forssner imstande, Blut und Organeiweiß spezifisch voneinander zu trennen. Er konnte Blutimmunsera gegen Leber, Niere und Milz spezifisch machen, d. h. sie reagierten dann nur noch mit Blut, nicht mehr mit Leber usw. gegen Muskeleiweiß bestand, in einem von ihm untersuchten Falle, an und für sich eine Spezifität. Andererseits war es möglich, Antisera, die durch Injektion von Leber, Nieren und Magenpreßsaft gewonnen waren, gegen Blut spezifisch zu machen, ein Milzpreßsaft war gegen Blut an und für sich spezifisch, ein anderer konnte dagegen abgesättigt werden.

Die Organpreßsäfte untereinander waren schwieriger zu trennen. Am leichtesten war eine Spezifität von Nieren- und Leberimmunseris gegen Muskelpreßsaft zu erzielen. Auch dem Magenpreßsaft gegenüber konnten Nieren- und Leberimmunsera leicht spezifisch gemacht werden. Am schwersten war die Trennung von Leber- und Niereneiweiß. Leberimmunsera konnten allerdings ohne Ausnahme gegen Nieren spezifisch erhalten werden, wenn auch in geringem Grade. Dagegen gelang eine Spezifizierung von Nierenimmunseris gegen Leberpreßsaft nur in einem Falle unter vier. Es ergibt sich also im wesentlichen eine Übereinstimmung mit den Forssnerschen Resultaten, abgesehen davon, daß Forssner Muskel- und Mageneiweiß nicht in den Kreis seiner Untersuchungen ge-

zogen hat. Nur in einem Punkte besteht eine Differenz, daß nämlich Forssner auch die beiden von ihm erhaltenen Nierenimmunsera gegenüber Leberauszügen trennen konnte.

Grund ist der Ansicht, daß die Fähigkeit, spezifische Präzipitine zu erzeugen, einen Gehalt der betr. Organe an spezifischem Eiweißkörper entspricht. Der nicht spezifische Anteil der Präzipitinreaktion beruht auf der Anwesenheit gemeinschaftlicher Rezeptoren in den verschiedenen eiweißhaltigen Flüssigkeiten.

Wichtig sind auch die Untersuchungen von H. Pfeiffer, die er mit den Spermatozoen vom Rind anstellte.

Er stellte fest, daß nach Injektion von gewaschenen Spermatozoen des Rindes im Serum der Versuchstiere neben artspezifischen Partialpräzipitinen auch solche in weitaus überwiegender Mehrzahl entstehen, welche streng spezifisch für das angewandte Immunisierungsmaterial (Sperma) genannt werden müssen.

In homologen Lösungen (Sperma) bringt ein solches Serum einen fast momentan auftretenden, intensiven Niederschlag, in heterologem, artgleichen Extrakte (Nieren, Serum) erst nach längerer Zeit mehr oder minder deutliche Trübungen hervor.

Auf dem Wege der elektiven Absorption durch artgleiches Normalserum gelingt es, ein solches nicht zu hochwertiges Immunserum zu einem hochspezifischen für Spermalösungen zu machen. Mit solchen Seris konnte H. Pfeiffer nicht nur die verschiedenen Verdünnungen der Spermastammlösung, sondern auch in Gemischen von Sperma- und anderen Organextrakten das homologe Eiweiß mit Sicherheit auseinander halten.

Es konnten auch solche schwachwirksame Sera beobachtet werden, welche außer in der Spermalösung nur noch in Nierenextrakten Präzipitine erzeugten, eine Tatsache, die als ontogenetische Verwandtschaftsreaktion zu deuten sein dürfte.

Aus diesen Schlußfolgerungen ergibt sich, daß H. Pfeiffer auf dem Wege der Immunisierung mit reinen Spermatozoen zu analogen Resultaten gekommen ist, wie sie Weichardt und Liepmann für Plazentargewebe, Forssner und Grund für Nieren- und Lebergewebe des Meerschweinchens veröffentlicht haben.

Die von H. Pfeiffer benutzten Immunsera, sind aber, wie er ausdrücklich hervorhebt, nur wenig hochwertig gewesen, so daß er es unentschieden lassen muß, ob sie sich für die forensische Praxis eignen werden, zumal auch analoge Versuche mit menschlichem Sperma aus äußeren Gründen nicht angestellt werden konnten. Wir sind der Ansicht, daß diese Methoden viel zu wenig exakt sind, um für die forensische Praxis in Betracht zu kommen; sie haben lediglich ein theoretisch-wissenschaftliches Interesse.

Fassen wir die übereinstimmenden Angaben der letzterwähnten Arbeiten zusammen, so läßt sich sagen, daß eine biologische Differenzierung wenigstens gewisser Eiweißsubstanzen, besonders von Bluteiweiß eines und desselben Individuums, unter gewissen Einschränkungen wohl möglich ist.

In der **menschlichen Pathologie** dürften die Präzipitine in Anwendung zu ziehen sein für den Nachweis von Eiweißspuren im Urin, da, wie bereits oben erwähnt, die biologische Reaktion alle chemischen Proben an Feinheit übertrifft. Derartige Untersuchungen sind angestellt von Leclainche und Vallée, Mertens und Zülzer, welche nach Injektion von eiweißhaltigem Urin spezifische präzipitinhaltige Antisera er-

zeugten und zum Nachweis von Eiweiß benutzten. Ebenso rufen die Blutantisera Niederschläge in eiweißhaltigem Urin hervor.

Auch in der Sachverständigenpraxis hat die Differenzierung von Eiweißsubstanzen im Urin bereits Verwendung gefunden. So teilte Wegner einen Fall mit, in dem ein Mann, um eine Rente zu beziehen, seinen Urin mit Hühnereiweiß versetzt hatte, wie auf biologischem Wege festgestellt werden konnte.

Schattenfroh konnte nach Einspritzung von normalem tierischen Harn Präzipitine nicht erzeugen. Ebenso fielen die Versuche von Michaelis und Fleischmann negativ aus. Dagegen gelang es Landsteiner und v. Eisler sowie Friedenthal, nach Injektion großer Mengen 300 bis 400 ccm normalen menschlichen Harns spezifische Präzipitine zu erhalten, welche nur ganz minimale Präzipitation im menschlichen Serum, wohl aber in auf 60° C erhitztem Extrakt aus menschlichen blutfrei gewaschenen Nierengewebe deutliche Reaktion hervorriefen. Auch ist neuerdings von Uhlenhuth und Haendel festgestellt, daß Meerschweinchen mit normalem Menschenurin eingespritzt, gegen menschliches Blutserum anaphylaktisch gemacht werden können.

Während Mertens und Zülzer aus ihren Versuchen auf eine Identität des Eiweißes im Blut und Urin schließen, widersprechen Landsteiner und v. Eisler dieser Ansicht.

Daß der Eiweißharn bei Nephritis mit Blutimmunseris reagiert und selbst Immunsera zu erzeugen imstande ist, gegen die das Blutserum der gleichen Tierart reagiert, ist, wie gesagt, bereits von Uhlenhuth, Mertens, Schütze festgestellt worden. Aber aus dem Umstande, daß eben auch andere Körpergewebe ähnliche Reaktionen wie das Blut zu geben imstande sind, geht hervor, daß durch eine einfache Ähnlichkeit der Reaktion nicht ausgeschlossen werden kann, daß auch aus anderen Körperteilen stammende Eiweißkörper, vor allem auch solche aus der Niere, die Reaktion bedingen. Hierauf ist mehrfach aufmerksam gemacht worden (Moreschi, Zülzer).

Daß das Harneiweiß bei Nephritis mit dem Bluteiweiß identisch ist, wissen wir ja auch aus seiner chemischen Beschaffenheit, ebenso wie nach den Bedingungen, unter denen es auftritt. Grund hat es unternommen, diese Tatsache auf biologischem Wege zu prüfen. Er prüfte eine Anzahl eiweißhaltiger Urine gegen Sera, die nach Absättigung mit Nierenpreßsaft spezifisch auf Blutserum bzw. nach Absättigung mit Blutserum spezifisch auf Nierenpreßsaft vom Menschen reagierten. Er stellte fest, daß die Reaktion mit dem Blutimmunserum auch nach Absättigung mit Nierenpreßsaft bestehen blieb. Mit dem Nierenimmunserum, das vor der Absättigung eine gute Reaktion gegeben hatte, war nach der Absättigung mit Blutserum eine Reaktion gegenüber Harneiweiß nicht mehr zu erzielen. Es waren also Nierenbestandteile im Harneiweiß nicht nachweisbar. Grund meint, daß dieser Befund zwar nicht die Möglichkeit ausschließt, daß geringe Mengen von Harn dem Nachweis entgangen sein könnten. Sie dürften aber, wenn überhaupt vorhanden, auch in den Fällen parenchymatöser Nephritis nur spärlich gewesen sein.

Neuerdings hat Brezina das im Kot enthaltene Sekret der Verdauungsdrüsen zur Erzeugung von Präzipitinen mit Erfolg benutzt. Er stellte seine Versuche mit Extrakten von Hundekot an, einige auch mit Menschenkot.

Die Kotextrakte waren so hergestellt, daß der Kot mit der 6- bis 8fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verrieben, die Mischung über Nacht stehen gelassen, dann zentrifugiert und zunächst durch Papierfilter, hierauf durch Berkefeld-Filter filtriert wurde. Besser ist das

einfache Zentrifugieren und Versetzen der abgehobenen Flüssigkeit mit Chloroform. Zur Konzentration des Antigens kann sie im Vakuum über Schwefelsäure oder Phosphorpentoxyd eingeengt werden.

Die mit diesen Extrakten erzeugten Präzipitine waren spezifisch, die Serumpräzipitine reagierten mit den Kotextrakten überhaupt nicht oder nur sehr wenig (Biondi), während die Kotpräzipitine ihrerseits mit dem Serum keine Fällung ergaben. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Fürstenberg. Wilenko setzte die Versuche fort. Er stellte fest, daß Menschenkotsera am stärksten mit Extrakten aus normalen menschlichen Fäzes reagieren. Spuren von Präzipitaten traten auch in Menschenserum auf. Mit dem Inhalt aus verschiedenen Darmabschnitten gibt Kotserum nur schwache Präzipitinreaktion. Menschenimmunserum gibt die Präzipitinreaktion am stärksten mit dem Inhalte aus dem Dünndarm, in den tieferen Abschnitten wird sie immer schwächer. Mit Fäzes reagiert Menschenimmunserum nur in Spuren. Der Inhalt jedes einzelnen Darmabschnittes erzeugt spezifische Präzipitine. Die Präzipitinreaktion mit Fäzes von Darmkranken verhält sich gewöhnlich abweichend von der Reaktion mit normalen Fäzes, ohne jedoch einen einheitlichen Typus aufzuweisen, die Reaktion ist daher vorläufig zu diagnostischen Zwecken nicht verwendbar. Interessant ist die Tatsache, daß im Cholerastuhl Eiweiß mit solchen Präzipitinen nicht nachzuweisen war (Kraus und Wilenko). Auch gegen Meconium sind neuerdings spezifische Präzipitine erzeugt worden (Sohma und Wilenko).

Fleig und Lisbonne haben angegeben, daß die Flüssigkeit der Hydatiden (Echinokokkenblasen) mit dem Serum der Kranken Präzipitation geben. Ghedine und Joest, sowie Gheradini konnten das nicht bestätigen.

Welsh und Chapman erhielten in 9 Fällen von Echinokokken Präzipitation, bei 4 Verdächtigen, die sich aber bei der Operation als andere Krankheiten herausstellten, und bei 5 Gesunden keine Präzipitation. Bei der Prüfung verschiedener Hydatidenflüssigkeiten ergab sich, daß manche keine Präzipitation gaben, weder mit dem Serum von Kranken noch mit einem Kaninchenimmunserum.

Beachtenswert sind in dieser Beziehung noch die Versuche von Isaak und van den Velden.

Das Blutserum eines an Bothriocephalusanämie leidenden Patienten gab eine Präzipitinreaktion mit dem Safte von Bothriocephalusproglottiden, während normales Menschenserum nicht in dieser Weise reagierte. Kaninchen, die mit Bothriocephaluseiweiß vorbehandelt wurden, lieferten ein Serum, das dieses Eiweiß präzipitierte. Aus diesen Beobachtungen schließen die Autoren, daß bei der Bothriocephaluserkrankung Stoffe des Bandwurms ins Blut gelangen und Präzipitinbildung hervorrufen.

Bezüglich der Entstehung der Bothriocephalusanämie sei in diesem Zusammenhang auf die interessanten Untersuchungen von Tallquist verwiesen.

Fleckseder und v. Steyskal haben mit Extrakten aus dem Kopf und den Proglottiden der Taenia mediocanellata bei intraperitonaler Injektion von Kaninchen und Katzen ähnliche Resultate erzielt. J. Langer hat die frisch abgegangenen Proglottiden oder Parasiten nach gründlicher Reinigung und Zerreiben in physiol. Kochsalzlösung filtriert zentrifugiert und unter Toluol aufbewahrt. Er konnte im Organismus von Menschen, welche Taenia mediocanellata und Taenia solium beherbergten, sowie beim Hunde mit Taenia cucumerina s. elliptica keine Antikörperbildung durch Präzipitinreaktion nachweisen. Tiere, welche mit großen Mengen von Extrakten vorbehandelt waren, lieferten dagegen hoch-

wertige Taenienimmunsera, welche nicht allein mit Eiweißlösungen von homologen, sondern auch mit jenen von nahestehenden Parasiten reagierten.

Auch für die Karzinomforschung ist die Präzipitinreaktion in mehrfacher Hinsicht verwendet worden.

Wiederholt ist man der Frage näher getreten, ob es gelingt, mit Karzinomextrakten aus dem Serum Karzinomatöser, spezifische Präzipitine zu erzeugen. Es sind hier besonders die Arbeiten von Engel, Kullmann, Löffler, Mertens, Maragliano, Romkes, Serafini und Diez, Kelling, v. Dungern zu nennen.

Engel erzeugte durch Einspritzung von Blutserum Karzinomatöser, sowie auch durch Injektionen vom Extrakt eines Mammakarzinoms bei Kaninchen präzipitierende Sera, die aber aus oben erwähnten Gründen auch mit anderen Eiweißsubstraten von Krebskranken und auch Gesunden reagierten. Auch zu therapeutischen Versuchen hat er diese Sera angeblich mit Erfolg verwendet. Löffler machte bei einem inoperablen Mammakarzinom einen therapeutischen Versuch mit dem Serum eines Esels, der mit nach seiner Methode (trockenes Erhitzen) präpariertem Karzinommaterial vorbehandelt worden war. Das Serum dieses Esels zeigte deutliche Präzipitinreaktion mit einer 1%igen Lösung des Karzinomsaftes; es wirkte aber auch auf Lösungen normaler Drüsensubstanz. Die Entwicklung der Geschwulst wurde nicht aufgehalten. Kullmann immunisierte Kaninchen mit Karzinomextrakten und gewann auf diese Weise präzipitierende Sera, die aber eine spezifische Präzipitation nicht erkennen ließen, denn sie erzeugten in gleicher Weise Niederschläge im Blutserum von Karzinomatösen und Gesunden, Nephritikern, sowie in pleuritischen Exsudaten — wie das nicht anders zu erwarten war.

Auch Mertens erzielte unsichere Resultate, obwohl er sich der Absättigungsmethode bediente (s. oben).

Maragliano (s. oben) behandelte Kaninchen mit Magensaft von an Magenkrebs leidenden Personen etwa 5 Wochen lang, indem er ihnen zweimal wöchentlich 10—15 ccm injizierte. Das gewonnene Serum des Kaninchens wurde mit Menschenblutlösung 1:50 abgesättigt. Es zeigte sich dann, daß das Serum mit dem Magensaft von an Magenkrebs leidenden Patienten, nicht aber mit normalem Magensaft noch reagierte. In ähnlicher Richtung bewegen sich die Untersuchungen von Serafini und Diez. Das Maragliano'sche Serum wurde mit dem Magensaft von an Magenkrebs leidenden oder nicht an solchem leidenden Personen vermischt. Bei nicht krebsartigen Magenleiden war die Reaktion stets negativ. Bei Karzinomen war sie mehrmals positiv. In neuerer Zeit hat H. Citron unter Leitung von Uhlenhuth gewöhnliches Menschenblutpräzipitinserum für die Diagnose von Magenkrankheiten verwendet. Es stellte sich heraus, daß das Antiserum nur in säurefreien Magensäften einen Niederschlag hervorrief, und auch nur dann, wenn ein organisches Magenleiden (Karzinom, Ulcus, Achylie) vorlag. Für das Magenkarzinom ist die Reaktion nicht spezifisch.

Romkes (zit. nach Apolant im Handbuch von Kolle-Wassermann) erzeugte Präzipitation, wenn er das Serum von mit Karzinomemulsion vorbehandelten Tieren mit Karzinomextrakt mischte. Waren alle normalen präzipitabelen Substanzen aus dem Serum Krebskranker durch ein Tierserum gefällt, das durch Vorbehandlung mit normalem Menschenserum gewonnen war, so konnte mit einem Krebsimmunserum kein Niederschlag mehr erhalten werden. Dagegen gab die Mischung von Karzinomimmunserum mit dem Extrakt von Karzinomen noch eine Trübung, wenn zuvor durch normales Immunserum eine optimale Präzipitation erzielt war.

Kelling stützt seine Theorie von der Entstehung von Karzinomen auf den Ausfall der Präzipitinreaktion. Er nimmt an, daß die Tumoren, wie auch Cohnheim meint, aus Embryonalzellen hervorgehen, jedoch sollen diese von fremden Tierarten stammen. Er will gefunden haben, daß ein Extrakt aus menschlichem Magenkrebs mit einem Serum reagiert, das durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Hühnerembryoneneiweiß oder Eiweiß von ausgewachsenen Hühnern gewonnen worden ist. Da er das häufiger fand, so glaubte er die Entstehung der Geschwülste auf den Genuß von rohen Hühnereiern zurückführen zu müssen. In anderen Fällen will er eine Präzipitinreaktion des menschlichen Krebsgewebes mit Schweinepräzipitin erhalten haben und schließt daraus auf die Herkunft der Geschwulstzellen vom Schwein (Genuß von roher Wurst!). Außerdem berichtet er, daß krebskranke Menschen, infolge der Anwesenheit eines fremden Eiweißkörpers, in ihrem Blutsserum ein Präzipitin für dieses fremde Eiweiß enthalten und zwar in einigen Fällen für Hühnereiweiß, in anderen für Schweineeiweiß.

Wie von vornherein anzunehmen war, beruhen diese Behauptungen zweifellos auf Versuchsfehlern und einer nicht einwandsfreien quantitativen Anwendung der Präzipitinmethode. Fuld und v. Dungern gaben sich die Mühe, durch eine größere Versuchsreihe die Fehler in der Technik aufzudecken und die Irrtümer in den Voraussetzungen Kellings nachzuweisen. Sie haben die Behauptungen Kellings entsprechend zurückgewiesen. Immerhin glaubten wir diese Befunde des allgemeinen Interesses wegen hier anfügen zu sollen.

Auch Fragen der **Ernährungsphysiologie** hat man mit Hilfe der Präzipitinmethohe bearbeitet. Es war z. B. von Interesse festzustellen, ob artfremdes genuines Eiweiß unverändert die Darmschleimhaut passieren und Präzipitine erzeugen kann. Uhlenhuth, der zuerst diese Frage studiert hat, stellte fest, daß man bei ausgewachsenen Kaninchen durch Überfütterung mit großen Mengen Hühnereiweiß Präzipitine im Blutserum dieser Tiere erzeugen kann. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Ascoli, Michaelis und Oppenheimer, Bertarelli u. a. Cantacuzène, Ganghofner und Langer studierten nun weiterhin die Frage, ob auch unter den gewöhnlichen Verhältnissen der Nahrungsaufnahme der Übergang genuiner Eiweißstoffe, und zwar aus dem Säuglingsdarm in die Blutbahn durch die Präzipitinreaktion sich nachweisen lasse. Sie stellten fest, daß bei neugeborenen bis zu 6 Tage alten Hunden nach stomachaler Einverleibung von Hühnereiweiß oder Rinderserum das Eiweiß im Blutserum des Tieres durch die Präzipitinreaktion festgestellt werden konnte, ebenso bei neugeborenen Katzen, ganz jungen Kaninchen (3.—10. Lebenstag) und Ferkeln. Bei letzteren ließ sich auch Präzipitinbildung nach stomachaler Einverleibung von Hühnereiweiß feststellen. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Schkarin bei neugeborenen Kaninchen, die mit Kuhmilch ernährt wurden. Bei älteren Tieren tritt dagegen ein auf diesem Wege nachweisbarer Übergang von genuinem, körperfremdem Eiweiß nur nach „Eiweißüberfütterung" auf (Uhlenhuth).

Rinderserum direkt in den Dünndarm — mit Umgehung des Magens — eines älteren Hundes injiziert, ließ sich durch die Präzipitinreaktion im Blut nachweisen.

Durch künstliche Läsionen der Magenschleimhant junger Hunde — durch Sodalösung (Krotonöl) — konnte ebenfalls ein Übertritt von Hühnereiweiß in die Blutbahn durch die biologische Methode festgestellt werden.

Gelegentliche Versuche an Säuglingen bestätigten die Tierversuche. Bei einem 3 Wochen alten Kinde, das 24 Stunden vor einer Operation

wegen Lymphangioma colli 30 g Hühnereiweiß erhielt, konnte in der Cystenflüssigkeit, weniger im Blut, Hühnereiweiß nachgewiesen werden.

Bei einem 1 Tag alten Kinde war der Nachweis von präzipitabler Substanz im Blute noch eklatanter. Bei einem an Magendarmkatarrh leidenden 4 Monate alten Kinde fiel der Versuch negativ aus.

Die Autoren weisen auf Grund ihrer Versuche darauf hin, daß die Zufuhr von körperfremdem Eiweiß bei normalen Neugeborenen als auch beim magendarmkranken älteren Säugling dadurch schädigend wirken kann, daß es unverändet ins Blut gelangt.

Zu anderen Ergebnissen kamen fast gleichzeitig Hamburger und Sperk, die jedoch vorwiegend erwachsene Individuen bei ihren Versuchen berücksichtigten, auch ist es möglich, daß sie zu kleine Dosen des artfremden Eiweißes (rohes Rindfleisch, Eiklar, Pferdeserum) wählten.

Castronnuovo stellte bei Kaninchen und Hunden fest, daß nach intensiver Darreichung von Pflanzeneiweiß per os keine Präzipitine im Blutserum auftreten.

In der Annahme, daß die lädierte Schleimhaut des Darmes die Durchgängigkeit für Kuhmilcheiweiß begünstige, bemühten sich Hamburger und Moro im Blutserum von magendarmkranken Flaschenkindern Milcheiweiß oder spezifisches Präzipitin nachzuweisen. Diese zuerst negativ verlaufenen Untersuchungen wurden von Moro allein weiter fortgesetzt. In dem aus dem Herzblut von 22 an Atrophie gestorbenen Säuglingen gewonnenen Serum konnte er zweimal Präzipitine gegen Kuhmilch, einmal durch Komplementbindung auch Milcheiweiß nachweisen.

Einen ähnlichen Befund von präzipitabler Substanz der Kuhmilch hatte Bauer bei dem Blute eines Atrophikers.

Kentzler machte Versuche am Menschen, um die von ihm in vitro angestellten Untersuchungen zu bekräftigen, wonach die Salzsäure die Arteigenheit der in die Nahrung aufgenommenen fremden Eiweißkörper stark beeinflußt, daß sie durch sehr empfindliche spezifische Präzipitinreaktion nicht mehr nachgewiesen werden kann.

2—3 Stunden nach dem Genuß bestimmter Milchmengen untersuchte Kentzler das Blutserum von verschiedenen Patienten mittels der Präzipitinreaktion auf das Auftreten von Kuhmilcheiweiß.

Von 61 Fällen erhielt er eine minimale Reaktion nur in 6 Fällen, in denen Störungen der Magensekretion vorlagen. Er schließt daraus, daß der Organismus die durch den Magen aufgenommenen Eiweißstoffe nicht in ihrer arteigenen Form aufnimmt, sondern erst nachdem sie durch die Salzsäure des Magensaftes ihrer Arteigenheit entkleidet sind.

M. Ascoli studierte den Mechanismus der Albuminurie durch Eiereiweiß mit Hilfe der biologischen Methode.

Er spritzte Kaninchen mit 5—10 ccm Eiweiß subkutan und konnte dann schon nach 1—2 Stunden mit den entsprechenden präzipitierenden Seris sowohl Kaninchen- wie Eiereiweiß im Urin nachweisen. Auch bei Applikation großer Mengen per os konnte er im Harn beide Eiweißarten nachweisen.

Er stellte dann weiterhin Versuche an gesunden und nierenkranken Menschen an, denen er größere Mengen Eier gab. Er konnte dann feststellen, daß gesunde Menschen nach mäßigen Mengen keine Albuminurie zeigten; trotzdem konnte das artfremde Eiweiß im kreisenden Blute durch die Präzipitinreaktion nachgewiesen werden.

Bei Nierenkranken konnte er es unter denselben Bedingungen im Harn nachweisen, auch bei alimentärer Albuminurie nach Genuß exzessiv

großer Mengen von rohen Eiern bei Individuen mit scheinbar intakten Nieren konnte er das Eiereiweiß im Urin nachweisen, in beiden Fällen aber auch Bluteiweiß. Bei subkutaner Einverleibung geringer Mengen Eiereiweiß konnte er in der Regel keine Albuminurie beobachten, aber bei Einspritzung größerer Mengen trat sie deutlich hervor und zwar wurde auch hier Blut- und Eiereiweiß ausgeschieden.

Ascoli und Vigano haben dann diese biologischen Untersuchungen über das Schicksal der eingeführten Eiweißsubstanzen der Nahrung weiterhin verfolgt und den Gehalt des Blutes und der Lymphe an präzipitablen Substanzen der Nahrung während der Verdauung untersucht. — Es kann auf alle diese Fragen hier nicht näher eingegangen werden.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von Hamburger und von Reuss, die bei intravenöser Einspritzung von verschiedenen Eiweißarten, Rinder-, Schweine-, Menschen-, Hühnerserum, Milch und Eiklar ein gänzlich verschiedenes Verhalten bezüglich der Schnelligkeit der Ausscheidung und des Auftretens der Präzipitinbildung feststellten. Milch und Eiklar wurden sehr schnell ausgeschieden (24 Stunden), während Serum noch lange Zeit durch die Präzipitinreaktion nachweisbar ist.

Eine **weitere praktische Anwendung** hat sodann die biologische Methode nach der von Wassermann und Schütze angegebenen Anweisung zur Unterscheidung der verschiedenen Milcharten gefunden, indem es nicht nur gelingt, die verschiedenen Milchsorten selbst in gekochtem Zustande (Uhlenhuth, Schütze) zu differenzieren, sondern auch, wie die Untersuchungen von Sion und Laptes beweisen, verschiedene Käsesorten ihrer Herkunft nach zu bestimmen. Bezüglich der Hitzebeständigkeit der Präzipitinogene der Milch ist es interessant, daß Milch, die 30 Minuten auf 114° C im Autoklaven erhitzt war, noch ungeschwächte Präzipitinreaktion zeigte (Uhlenhuth). Auch bei der Unterscheidung der verschiedenen Milcharten ist auf die Verwandtschaftsreaktion zu achten. Es gelingt nicht, Ziegenmilch von Schafmilch zu unterscheiden (Uhlenhuth, Moro, Gengou) wenn auch zugegeben werden muß, daß die Reaktionen in den homologen Milchsorten stärker sind.

Auch zur Untersuchung von Samenflecken ist das biologische Verfahren praktisch benutzt worden. Die ersten Untersuchungen verdanken wir Farnum. Er injizierte Kaninchen mit Aufschwemmungen von Nebenhoden und erzeugte auf diesem Wege Sera zum Nachweis von Tier- und Menschensperma (Mensch, Rind, Bullen). Jedoch erzeugen solche Sera auch Niederschläge in Blut und anderen Organsäften (Uhlenhuth und H. Pfeiffer). Schütze und H. Pfeiffer suchten solche Sera für forensische Zwecke durch elektive Absättigung für Sperma spezifisch zu machen (s. oben). Auch mit Blutantiserenserum kann man umgekehrt Sperma nachweisen (siehe oben) (Uhlenhuth, Biondi, Strube), doch muß in diesen Fällen der Nachweis erbracht werden, daß der vorliegende Fleck Sperma ist.

Über die biologische Untersuchung des Dotters, welche für die Nahrungsmitteluntersuchung in Betracht käme (Uhlenhuth, Ottolenghi), ist bereits oben das Nähere angegeben.

Für die Nahrungsmitteluntersuchung käme weiterhin in Betracht die Prüfung der verschiedenen Nährpräparate, wie sie von Uhlenhuth zuerst angewandt wurde. Mit einem Eiklarantiserum hat er die verschiedensten Eiweißpräparate auf den Gehalt an Eiklar untersucht. Er

prüfte die verschiedensten im Handel vorkommenden Präparate, Deyckes Alkalialbuminat, Nährstoff Heyden, Pepton Riedel, Kasein, Nutrose, Somatose, käufliche Serumpräparate, mit denen er negative Resultate erzielte, während die aus verschiedenen Quellen bezogenen Eiereiweißpräparate positive Ergebnisse zeitigten. Später wiesen Uhlenhuth und Weidanz nach, daß Hämatogen (Hommel) und käufliches Hämoglobin Rindereiweiß enthält. Ebenso wie von Gruber und Horiuchi konnten auch sie unabhängig von ihnen feststellen, daß in dem Fleischsaft „Puro", der aus Preßsaft von frischem Ochsenfleisch hergestellt sein soll, kein lösliches Rindereiweiß enthalten ist, sondern daß das chemisch nachweisbare Eiweiß aus Hühnereiweiß besteht. Zu denselben Ergebnissen kam gleichzeitig W. A. Schmidt.

Auch für fetthaltige Gewebe (Knochenmark, Butter, Margarine), sofern in ihnen noch lösliches Eiweiß vorhanden war, ließ sich das biologische Verfahren mit Vorteil verwenden (Uhlenhuth, Beumer, Weidanz, Schütze, Hüne, Fiehe). Es mag weiterhin noch hervorgehoben werden, daß v. Riegler ein präzipitierendes Serum zum Nachweis von Honig erzeugte; doch ist dabei zu betonen, daß ein solches Serum nur durch die eventuell in ihm vorhandenen Eiweißkörper erzeugt werden kann. Denn es ist experimentell festgestellt, daß Zucker, Stärke, Glykogen usw. zur Produktion von Präzipitinen nicht befähigt sind (Klein, v. Riegler, Uhlenhuth).

Weiterhin hat man spezifische Antisera gegen gewisse Peptone und Albumosen hergestellt und sie praktisch verwertet. Kowarski behandelte Kaninchen mit aus Weizenmehl durch Ausziehen mit phys. Kochsalzlösung auf dem Wasserbade gewonnenen Albumosen und erhielt ein Serum, das außer in Weizenalbumosen auch Niederschläge erzeugte in solchen von Gerste und Roggen, keinen aber in Lösungen von Hafer, sehr schwache in solchen von Erbsen. Er schloß daraus, daß pflanzliche Eiweißkörper nicht so verschieden seien wie die tierischen.

Bertarelli injizierte Eiweiß aus der Bohne, Erbse, Linse und Futterwicke Kaninchen, und zwar teils die wäßrigen Aufgüsse, teils die daraus durch Filtration des koagulierten Extraktes hergestellten Albumosen. Er kam zu ähnlichen Ergebnissen wie Kowarski. Bohnen verschiedener Varitäten konnte er nicht differenzieren. Gasis konnte mit Bohnen resp. Roggen und Reisantiserum bei quantitativen Arbeiten die verschiedenen Eiweißarten unterscheiden. Er steht auf dem Standpunkt, daß sich die pflanzlichen Eiweißkörper besser differenzieren lassen, als die tierischen.

Schütze versuchte die verschiedenen Hefearten zu differenzieren, kam jedoch zu dem Resultat, daß die in der obergärigen, untergärigen Getreide- und Kartoffelhefe enthaltenen Eiweißkörper sich nicht sicher unterscheiden lassen und meint, daß diese Eiweißstoffe ihrer Natur nach gleichartig seien oder doch einander außerordentlich nahe stehen müssen. Dagegen gelang es Schütze und Kowarski sehr leicht, das Pflanzeneiweiß „Roborat" von Muskeleiweiß also pflanzliches und tierisches Eiweiß zu unterscheiden. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte Castellani bei Versuchen Roborat und Somatose zu unterscheiden. Jacoby erzeugte ein präzipitierendes Serum gegen das aus den Rizinussamen gewonnene Pflanzeneiweiß das Rizin, Bashford gegen das Crotin. Neuerdings hat Miessner das Antirizinserum benutzt, um in verfälschten Futtermitteln Rizinussamen nachzuweisen.

Lusini erzeugte ein spezifisches Serum gegen Opiumextrakt.

Uhlenhuth und Jung haben präzipitierende Sera gegen Mohn-, Hanfsamen und Mandeln hergestellt, sie waren imstande, Mohn- und

Hanfsamen zu differenzieren, nicht aber süße und bittere Mandeln. Auch Relander machte ähnliche Untersuchungen. Ferner haben gegen Kokossameneiweiß Uhlenhuth und Haendel spezifische Sera erzeugt, in der Absicht, mit diesen das in dem Kokosöl etwa noch vorhandene Eiweiß nachzuweisen. Das gelang aber nicht, vielleicht deshalb, weil das Eiweiß in dem Kokosfett durch den Prozeß der Herstellung dieses Fettes verändert ist; dasselbe Ergebnis hatten sie bei entsprechenden Versuchen mit Mandeleiweiß (resp. öl) und Leinsameneiweiß (resp. öl). Wohl aber gelang es ihnen, mit rohem Leinöl Meerschweinchen anaphylaktisch zu machen, indem sie dieselben mit Leinsamenextrakt nachimpften.

Magnus und Friedenthal erzeugten präzipitierende Sera gegen Trüffel, Champignon und Hefe, das Hefeserum gab auch in Trüffeleiweiß einen Niederschlag, während Champignon- und Trüffelserum sich durchaus spezifisch erwiesen.

Wir sehen also, daß auch die präzipitierenden Sera gegen Pflanzeneiweiß eine praktische Bedeutung erlangen können, sei es für die Nahrungsmitteluntersuchung, sei es für die Feststellung der Verwandtschaft

Auch für das Studium der Aufnahmefähigkeit von tierischem Eiweiß durch Pflanzen ist die Präzipitinreaktion von Kraus, v. Portheim und Yamanouchi verwertet worden. Die Autoren haben gezeigt, daß den Wurzeln der Bohnenkeimlinge die Fähigkeit zukommt, Blutserum, also tierische präzipitierbare Substanz, aufzunehmen. Die Mengen des aufgenommenen Serums waren jedoch nur gering.

Aus allen bisherigen Untersuchungen, die an dieser Stelle nur kurz skizziert werden konnten, geht hervor, daß wir erst im Beginn der biologischen Forschungen stehen und daß, obwohl sie bereits eine hohe Bedeutung für die Praxis gewonnen haben, doch noch viele Fragen zu lösen sind. Die Zukunft wird lehren, welchen praktischen Wert die Präzipitine in der Physiologie, Pathologie, der forensischen Medizin und der Nahrungsmittelchemie weiterhin erlangen werden.

Was die Natur und den Bau der bei der Reaktion beteiligten Körper, die Hemmungen der Reaktion usw. anbetrifft, so wissen wir darüber noch sehr wenig. Es sei in dieser Beziehung besonders auf die Arbeit von R. Kraus „Über spezifische Niederschläge“ (Präzipitine) in Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

Praktische Anwendung des biologischen Verfahrens für die forensische Blut- und Fleischuntersuchung.

Die praktische Anwendung des biologischen Verfahrens erstreckt sich in erster Linie

A. auf die Erkennung und die Unterscheidung der verschiedenen Blutarten;

B. auf den Nachweis verschiedener Fleischarten (Pferdefleisch usw.).

Es erscheint daher geboten, auf die Technik und Methodik in ausführlicher Weise einzugehen.

A. Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zur Unterscheidung verschiedener Blutarten.

Da die biologische Methode nicht eine spezifische Blutprobe, sondern eine spezifische Eiweißreaktion ist, so ergibt sich die notwendige

Konsequenz, daß zunächst der Nachweis von Blut als solchem erbracht sein muß.

Eine exakte forensische Blutuntersuchung zerfällt daher in zwei Teile:

1. den Nachweis von Blut,
2. die Bestimmung der Herkunft des Blutes.

Wenn es auch eigentlich über den Rahmen dieser Abhandlung hinausgeht, die chemisch-physikalischen Methoden für den Nachweis von Blut als solchem hier genau zu besprechen, so dürfte eine etwas ausführlichere Darlegung in diesem Zusammenhange dem Fachmanne doch erwünscht sein, da in der forensischen Praxis der chemisch-physikalische Blutnachweis von der biologischen Bestimmung der Art des Blutes nicht getrennt werden kann und in den meisten Lehrbüchern eine zusammenhängende Darstellung über den Gang beider Verfahren noch fehlt.

1. Der chemisch-physikalische Nachweis von Blut.

Allgemeines.

Die Untersuchung auf Blut beginnt mit der genauen Besichtigung der auf Blut verdächtigen Gegenstände. Hauptsächlich sind es Kleidungs- und Wäschestücke des mutmaßlichen Täters, sowie Werkzeuge, Äxte, Messer, Hämmer, Stöcke usw., seltener Möbelstücke, Wände, Tapeten, Türen, Fußböden, auch Bäume, Pflanzen, Erde, Steine, Schnee und Wasser, die der sachverständigen Prüfung zu unterziehen sind.

Die Farbe der Blutflecke ist bei ganz frischem Material gewöhnlich rot, bei älteren Flecken mehr braunrot; auch eine braune, braungrüne, olivengrüne, graue oder schwarze Farbe wird bei älteren Flecken beobachtet. Bei mit Wasser behandelten Blutflecken ist von einer Färbung makroskopisch häufig überhaupt nichts zu sehen.

Weit wichtiger noch wie die Farbe ist für die praktische gerichtliche Medizin die Form der Blutflecke, da sie in kriminalistischen Fällen wichtige Fingerzeige abgeben kann.

Um festzustellen, ob überhaupt auf Blut verdächtige Flecken vorhanden sind, empfiehlt es sich, die betreffenden Gegenstände im direkten auffallenden Sonnenlicht oder, wenn dieses nicht vorhanden ist, in der Nähe des freien Lichtbogens einer elektrischen Bogenlampe (Kockel) zu betrachten. Etwaige Blutflecke erkennt man dann an einer matten rotbräunlichen Färbung. Durch Aufkratzen mit einer Nadel wird der bräunlichrote Farbenton noch deutlicher.

Wird dem Sachverständigen außer den schon erwähnten Gegenständen die ganze Garderobe eines Angeklagten mit dem Auftrage übergeben, nach Blutflecken zu suchen, dann muß alles eventuell unter Zuhilfenahme einer Lupe bei guter Beleuchtung sorgfältig durchsucht und jeder nur einigermaßen verdächtige Fleck auf Blut geprüft werden. Besonderer Aufmerksamkeit bedürfen dabei die Gegend der Knöpfe und Knopflöcher, sowie das Innere der Taschen. Die Kleidungsstücke sind an verdächtigen Stellen auseinanderzutrennen, dabei sind die Nähte, das Futter und das Zwischenfutter, sowie die hier oft anzutreffenden filzartigen Einlagen auf das genaueste zu untersuchen. Bei kleinen Blutflecken, die besonders an der Wäsche deutlich wahrzunehmen sind, hat man daran zu denken, daß sie auch von Ungezieferexkrementen, in denen auch Menschenblut vorhanden sein kann, oder von Insektenstichen herrühren können. Bei größeren Blutflecken wird dies natürlich nie in Frage kommen.

Verdächtige Flecke an Messern, Beilen, Handwerkszeugen usw. werden nach genauer Besichtigung vorsichtig mit einem feinen Messer abgehoben oder abgeschabt; Blutkrusten blättern von Metall, wenn sie nicht angerostet sind, leicht ab. Obwohl die Instrumente nach der Tat meist sorgfältig gereinigt werden, bis äußerlich nichts Verdächtiges mehr zu bemerken ist, finden sich doch in der Regel noch Blutspuren in den Ritzen, Spalten und Fugen, z. B. in der Scharniergegend eines Messers oder zwischen Holzgriff und Eison eines Hammers. Es müssen dahor solche Instrumente vollständig auseinandergenommen werden. Schießwaffen sind in ihre einzelnen Teile zu zerlegen. Von Stöcken ist dio Zwinge abzunehmen, bei Hämmern, Hacken und Beilen ist der Stiel aus dem Öhr herauszuschlagen. Um hierbei die etwa abfallenden und abstäubenden Partikelchen zu sammeln, wird man solche Instrumente vorsichtig über einem Bogen weißen Papiers auseinandernehmen.

Zum Aufsuchen von Blutflecken, besonders auf dunklen und braunroten Stoffen und sonstigen Gegenständen, läßt sich die von Richter empfohlene Wasserstoffsuperoxydprobe mit Vorteil verwenden. Sie beruht auf der Tatsache, daß bei der Berührung dieses Reagens mit Blut eine weiße Schaumbildung — Katalyse (Entwicklung von O) — auftritt.

Tropft man einige Tropfen einer reinen Wasserstoffsuperoxydlösung (3%) auf die verdächtige Stelle und tritt danach keine Schaumbildung auf, so gilt das als Beweis dafür, daß kein Blut vorhanden ist. Ist die Probe positiv, so kann der Fleck aus Blut bestehen. Da aber auch viele andere Substanzen — verschiedene Eiweißkörper, Eisenfeilspäne, organisches pflanzliches Material (Uhlenhuth) usw. — ebenfalls Katalyse hervorrufen, so muß zu weiteren Proben geschritten werden.

Bei genügend vorhandenem Material kann man noch als zweite Vorprobe die Guajak- oder Ozonprobe von van Deen ansetzen.

Sie beruht auf der Eigenschaft des Hämoglobins, einem ozonisierenden Körper, wie altem sauerstoffreichen Terpentinöl, den Sauerstoff zu entziehen, um ihn auf Guajaktinktur zu übertragen, worauf sich dieselbe bläut. Zur Ausführung der Reaktion kratzt man ein paar Körnchen von dem Blut ab. Ist das nicht möglich, z. B. bei Stoffen und Geweben, so genügt auch eine Stoff- oder Gewebsfaser; das so gewonnene Untersuchungsmaterial wird auf reines Fließpapier gelegt, mit Wasser befeuchtet und mit einem Glasstab gepreßt, bis sich auf dem Papier eine rötliche oder gelbe Färbung zeigt. Auf die verfärbte Stelle tropft man einige Tropfen Guajaktinktur.

Die Tinktur wird wie folgt hergestellt: 1 Teil frisches Guajakharz wird in 5 Teilen 90%igem Alkohol gelöst und nach einigen Tagen klar filtriert. Die Lösung ist vor Licht geschützt aufzubewahren. Stryzowski stellt sich die Guajaktinktur aus fein zerteiltem Guajakholz, das mit 70%igem Alkohol übergossen wird und dann einige Tago dem Licht ausgesetzt wird, her.

Fügt man nun weiterhin einen Tropfen alten sauerstoffreichen Terpentinöls hinzu, so wird bei Gegenwart von Blut eino intensive Bläuung des Fleckons auftroten. Eine Kontrolle empfiehlt sich mit dem Fließpapior allein, denn Fließpapier zeigt bisweilen an sich schon eine Bläuung bei Auftropfen dor genannten Roagentien.

Die VAN DEENsche Reaktion ist sehr empfindlich, ist aber auch keineswegs dem Blute allein eigentümlich. Kleber, Kasein, Speichel, Milch, wässerige Pflanzenextrakte bläuen ebenfalls Guajaktinktur bei Terpentinölzusatz, ebenso Substanzen wie Eisenchlorid, Rost, Eisenvitriol, Kaliumpermanganat, Jodkali.

Ein weiterer Mangel der Guajakprobe besteht nach PUPPE darin, daß altes und unlösliches Blut die Reaktion nur gibt, wenn man es vorher in Eisessig gelöst hat. Außerdem sollen Temperaturen von 133° C dem Blut definitiv die Fähigkeit, das Ozon des Terpentinöls zu übertragen, nehmen; weiterhin gelingt die Reaktion bei alkalischen Hämatinlösungen nicht, wohl aber bei sauren. Die geringe Spezifität der Reaktion hatten schon LIMAN veranlaßt, sich dahin auszusprechen, daß der positive Ausfall der Terpentinguajakprobe nicht unter allen Umständen beweisend für das Vorhandensein von Blut sei, daß aber ihr negativer Ausfall die Anwesenheit von Blut ausschließe.

Neuerdings ist die von O. und R. ADLER angegebene Benzidinprobe auf Blut auch für die forensische Praxis warm empfohlen worden (WALTER, STRASSMANN, ASCARELLI). Sie ist empfindlicher als alle anderen gebräuchlichen Vorproben, auch als die Guajakprobe. Fällt sie negativ aus, so ist sicher kein Blut vorhanden. Harn, Milch, Sperma, Sputum, Eiter, Rost geben die Reaktion nicht.

Über das im Institut für Staatsarzneikunde zu Berlin von ASCARELLI ausgearbeitete Verfahren sind folgende Angaben zu machen:

Benzidin von KAHLBAUM, eine Messerspitze voll, wurde mit absolutem Alkohol zu einer gesättigten Lösung gebracht und zu 2 ccm dieser Lösung 2 ccm H_2O_2 (3%) hinzugefügt, geschüttelt und schließlich noch 1—2 Tropfen Eisessig hinzugegeben. Dieses Reagens wurde für jede Untersuchung frisch bereitet.

Mit dem Blutobjekt in Lösung oder in Substanz gemischt, entsteht sofort eine tief- bis hellblaue Färbung der Lösung, je nach der Menge des Blutfarbstoffes. Eine später als eine Minute eintretende Bläuung wird nicht mehr als positive Reaktion angesehen.

Ferner wurde ein Benzidinreagenzpapier benutzt, das auf zweierlei Art verfertigt wurde. Ein kleines Blatt Fließpapier, vierfach gefaltet, wurde mit dem wie oben bereiteten Benzidinreagens getränkt und nach dem Trocknen wurde auf 1—2 Tropfen der Untersuchungsflüssigkeit dasselbe getropft oder aber das vierfach gefaltete Fließpapier wurde mit gesättigter alkoholischer Benzidinlösung und einem Tropfen Eisessig getränkt, mit dem feuchten Reagenspapier das Blutobjekt abgetupft und dann H_2O_2 darauf getropft. Auch hier wurde die Beobachtung auf eine Minute beschränkt, da später auch ohne die Anwesenheit von Blut Bläuung auftreten kann. Zunächst wurde an titrierten Blutlösungen die Grenze der Reaktionsfähigkeit des Benzidins festgestellt. Eine schwache positive Reaktion wurde noch in der Blutverdünnung 1:300000 erhalten; doch dürfte für die forensische Beurteilung die Grenze etwas eher, etwa bei 1:250000, erreicht sein. Bis 1:350000 trat sogar noch eine schwache Verfärbung der Benzidinlösung ein; darüber hinaus blieb die Reaktion aus.

Mit Benzidinpapier angestellt, fiel die Probe bis zur Verdünnung 1:80000 positiv aus, bis zur Verdünnung 1:125000 war das Resultat unsicher, darüber hinaus negativ.

Endlich wurden, um kleinste Spuren von Blut nachzuweisen, Versuche mit Kapillarröhrchen gemacht, wie sie zur biochemischen Reaktion be-

nutzt werden. Zu diesem Zwecke wurde je ein Tropfen des Benzidinreagens und der Untersuchungsflüssigkeit nacheinander aufgesogen. An der Berührungsstelle entsteht sofort ein blauer Ring, der sich nach und nach verbreitert. Die Reaktion war hier positiv bis zur Verdünnung 1 : 100000, unsicher bis zu 1 : 150000, darüber hinaus negativ.

Nach dem positiven Ausfall dieser Vorproben empfiehlt es sich, die mikroskopische Untersuchung auf die charakteristischen Formelemente des Blutes vorzunehmen. Wenn es sich um alte Flecke handelt und sehr wenig Material vorhanden ist, auch nach den vorliegenden Akten Vogel- und Fischblut nicht in Frage kommt, kann davon Abstand genommen werden.

Hat man eine frische Blutlösung vor sich, so ist der mikroskopische Blutnachweis leicht zu erbringen. Die Herstellung des Präparats erfolgt dabei so, daß man einen sehr winzigen Tropfen auf einen Objektträger bringt.

Das Deckgläschen muß dann schnell und vorsichtig, ohne es hin und her zu schieben und ohne starken Druck auf den Objektträger gelegt werden. Handelt es sich um einen noch feuchten oder eben erst angetrockneten Fleck, so wird derselbe zweckmäßig mit physiologischer Kochsalzlösung (0,85 %ig) aufgeweicht. Betrachtet man das fertige Präparat unter dem Mikroskop, so läßt sich meist leicht feststellen, ob die Blutkörperchen rund oder oval sind, ob sie einen Kern haben oder nicht, selbst dann, wenn sie z. T. schon durch Verdunstung der Flüssigkeit zackige Ränder erhalten oder Maulbeerform angenommen haben. Im ersteren Falle handelt es sich um Säugetierblut, im letzteren um das Blut von Vögeln, Amphibien, Reptilien oder Fischen.

Schwieriger werden aber die Verhältnisse, sobald das Blut eintrocknet oder auch in durchlässiges Gewebe eingesogen ist. Hier müssen dann erst die geschrumpften und oft fest miteinander zu braunen, klumpigen Schollen verklebten Blutkörperchen wieder zur Quellung gebracht und möglichst von einander isoliert werden. Dies wird durch mehr oder weniger brauchbare Zusatzflüssigkeiten erreicht. Unter diesen ist nach unseren Erfahrungen als die brauchbarste die 32 %ige Kalilauge (Virchow) zu bezeichnen, ferner sind zu nennen die Roussinsche Flüssigkeit (Schwefelsäure 1,0, Glyzerin 3,0, destilliertes Wasser bis zum spezifischen Gewicht von 1,028), Hofmann-Pacinische Flüssigkeit (1 Teil Sublimat, 2 Teile Kochsalz, 100 Teile Glyzerin und 300 Teile Wasser), Puppesche Flüssigkeit (offizinelle Kalilauge und Formaldehyd zu gleichen Teilen), Marxsche Flüssigkeit (33 %ige Kalilauge und Chininum hydrochloricum zu gleichen Teilen) usw.

Zur Untersuchung bringt man auf den Objektträger etwas von der vorsichtig mit einem Messer oder einer Nadel abgeschabten Substanz des Fleckens, so daß das Deckgläschen eben etwas klafft, und läßt dann die Zusatzflüssigkeit zufließen.

Marx empfiehlt ganz besonders die 32 %ige Kalilauge, mit der er das Präparat versetzt und mehrere Stunden im Brutschrank bei 37° einwirken läßt. Er gibt an, daß es ihm auf diese Weise gelungen sei, aus 30—40 Jahre altem Blut noch vollkommen isolierte und wohl erhaltene Blutkörperchen darzustellen.

Bei auf Kleidungsstücken eingetrocknetem Blut empfiehlt es sich nach Schmorl, ein Stückchen des verdächtigen Fleckens herauszuschneiden, in Wasser aufzuweichen und dann in Hämatoxylin zu färben. Das gut differenzierte (1 % Salzsäurealkohol) mit Eosin (1 pro Mille) nachgefärbte

Präparat wird 3—6 Stunden in Wasser ausgewaschen und nach vorheriger halbstündiger Härtung in Alkohol in Wasser zerzupft. Die isolierten Fäserchen werden in Glyzerin untersucht. Nach Schmorl ist das Verfahren besonders zur Differenzierung von Säugetier- und Vogelblut geeignet.

Weiter hat man versucht, Stückchen der blutbefleckten Kleidung, ähnlich wie Organstücke, in Paraffin (Däubler) oder Celloidin einzubetten und so gefärbte Schnittpräparate herzustellen. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie etwaige zellige Beimischungen zum Blute leicht erkennen läßt; so ist es z. B. Kockel gelungen, in Schnitten durch Hemdensteff, der mit Menstrualblut getränkt war, Blut, Plattenepithelien, Eiterkörperchen und Bakterien nachzuweisen. Kockel hält auch diese Methode für die Darstellung von Fibrin in Blutflecken für geeignet. Praktisch wäre das insofern wichtig, als das Menstrualblut stets sehr fibrinarm ist, eine Tatsache, die bei Fehlen der sonstigen Beimengungen des Menstrualbluts (Platten- und Zylinderepithelien, Schleim) eine wichtige Stütze für die Annahme abgeben kann, daß die untersuchte Blutspur tatsächlich von Menstrualblut herrührt (Richter).

In den meisten Fällen wird man aber mit der mikroskopischen Untersuchung nicht mehr zum Ziele kommen. In alten Blutflecken sind die Blutkörperchen meist so deformiert, daß sie nichts charakteristisches mehr zeigen, sie können dann leicht zu Verwechslungen mit Schimmelpilzsporen, Hefezellen und besonders mit den so weit verbreiteten Weizenstärkemehlkörnern führen. Deshalb ist nach Richter und Kockel Voraussetzung für die Verwertung der mikroskopischen Befunde der Nachweis des Blutfarbstoffes, der durch die spektroskopische Untersuchung oder durch die Darstellung von Häminkristallen zu erbringen ist.

Stehen dem Sachverständigen geringe Mengen von Untersuchungsmaterial zur Verfügung, so wird man sich auf die Teichmannsche Häminprobe beschränken können, da für diese Reaktion die kleinsten Mengen genügen und die Reaktion bei positivem Ausfall den sicheren Nachweis von Blut liefert. Man verfährt hierbei folgendermaßen:

Ein kleines Partikelchen der verdächtigen Substanz wird möglichst rein von der Unterlage losgelöst. Ist das beispielsweise bei eingetrocknetem Blut nicht möglich, se muß man das Material ausziehen. Soll der Auszug gleichzeitig für die biologische Reaktien mit verwandt werden, se kommen als Extraktiensmittel nur selche in Frage, die den Ausfall dieser Reaktien in keiner Weise zu schädigen oder auch nur zu hemmen imstande sind, das ist die 0,85%ige Kochsalzlösung. Ein Trepfen der so erhaltenen Lösung wird auf einem Objektträger vorsichtig eingedampft. Der getrecknete Rückstand wird, ebenso wie das direkt durch Abkratzen erhaltene treckene Material, mit annähernd der gleichen Menge Kechsalz — ein zu reichlicher Kechsalzzusatz stört das mikroskepische Bild durch ein überreiches Aufschießen von Kochsalzkristallen — oder Jednatrium innig gemischt und seweit zerdrückt, daß das aufgelegte Deckglas um Haaresbreite klafft. Aus einer Kapillarpipette läßt man von der Seite se viel Eisessig — derselbe muß durchaus wasserfrei sein, d. h. am Glasstabe brennen — zufließen, daß der Raum zwischen Deckglas und Objektträger ganz damit ausgefüllt ist. Man erwärmt, indem man entweder den Objektträger zwischen Zeigefinger und Daumen faßt nnd über die Sparflamme eines Bunsenbrenners hält, bis kleine Bläschen aufsteigen, eder indem man mit einem erhitzten Glasstab, den man unter dem Objekt-

trägor hin- und herführt, die Erwärmung vornimmt. Jede Überhitzung ist zu vermeiden, weil sonst das Deckgläschen mit der Substanz explosionsartig fortgeschleudert wird. Sobald die Bläschen entstehen, hält man den Objektträger etwas höher über die Flamme und läßt so die Flüssigkeit bis auf einen ganz schmalen Streifen allmählich verdunsten, fügt abermals Eisessig hinzu, läßt wieder möglichst langsam verdunsten und wiederholt dieses Verfahren mehrere Male, weil man auf diese Weise die Kristalle am schönsten zur Darstellung bringen kann. Beim letzten Eindampfen ist es vorteilhaft, die Flüssigkeit bis auf einen kleinen Rest vollständig zu vertreiben. Dieser verhindert das Abgleiten des Deckgläschens und bewirkt bei seinem ganz allmählichen Verdunsten die Bildung großer und gut ausgebildeter Kristalle. Die so erhaltenen Häminkristalle sind mahagonirot und rhombisch und zeigen eine tafel- oder stäbchenartige Gestalt. Neben großen Kristallen finden sich oft winzig kleine, die über das ganze Präparat ungleichmäßig verteilt sind, sie sind dort am meisten angehäuft, wo die letzte Flüssigkeit verdampfte, also gewöhnlich am Rande des Deckgläschens.

Den Teichmannschen sehr ähnliche Kristalle erhält man, wenn man das Kochsalz durch Brom- oder Jodkalium ersetzt. Die Jodhäminkristalle sind dunkler gefärbt, treten aber sonst in derselben Form auf. Strzyzowki hat folgende Vorschrift angegeben, wonach sich diese leicht und schnell erhalten lassen:

Ein Gemisch von je 1 ccm Eisessig, Wasser und Alkohol wird kurz vor dem Gebrauche mit 3—5 Tropfen reiner Jodwasserstoffsäure versetzt. Man bringt die verdächtige Substanz trocken auf einen Objektträger, bedeckt sie mit dem Deckgläschen, setzt die Lösung hinzu und kocht sie zweimal je 10 Sekunden auf. Selbst bei den geringsten Spuren, bis 0,025 mg Blut, können noch Jodhäminkristalle erhalten werden. Bei wasserlöslichen Blutspuren wird man einen Tropfen der filtrierten Lösung auf dem Objektträger eindampfen und dann den Rückstand wie oben beschrieben behandeln. Die Strzyzowskischen Jodhäminkristalle bilden sich leichter und schöner und sind nach Angabe von Dennstedt und Voigtländer besonders für die photographische Aufnahme geeignet.

Da die Häminreaktion aber öfters versagt, so ist ihr negativer Ausfall noch kein vollgültiger Beweis für die Abwesenheit von Blut.

Während nach Kockel das Alter, sowie etwaige Fäulnis der Blutspuren ohne Einfluß auf den Ausfall der Häminprobe sind, so erhält man dagegen aus Blut, welches eine Stunde lang auf 140° C und darüber erhitzt worden war, keine Häminkristalle (Katagama, Hammerl). Nach v. Hoffmann soll die Reaktion durch die Anwesenheit von Fett, Seife und Rost ungünstig beeinflußt werden; nach Levin und Rosenheim wird dagegen die Kristallbildung durch Seife nicht beeinflußt, wohl aber durch längere und innige Berührung des Blutes mit oxydierendem Eisen. Nach den Untersuchungen von Max Richter ist die Schwierigkeit des Häminnachweises im wesentlichen bedingt durch die erschwerte Löslichkeit, welche auf Umwandlung des Hämoglobins in Hämatin basiert. Für derartige Fälle empfiehlt der Autor die blutverdächtige Substanz 12—14 Stunden mit Eisessig zu behandeln und dann erst die entstandene Lösung zur Vornahme der Häminprobe zu benutzen.

Aus dem negativen Ausfall der Teichmannschen Probe darf nicht auf das Fehlen von Blut geschlossen werden, da, wie gesagt, vor allem

durch Rost und sehr hohe Temperatur die Entstehung der Häminkristalle verhindert wird (HAMMERL).

Diese Nachteile soll ein neuerdings von LECHA-MARZO angegebenes sehr einfaches Verfahren nicht besitzen. Das ursprünglich von LECHA-MARZO angegebene Verfahren wird von ihm folgendermaßen geschildert.

Auf ein Glasplättchen, auf dem der Niederschlag von der Verdampfung einer Blutlösung sich befindet, bringt man nacheinander je ein Tröpfchen:

1. einer alkoholischen oder wässerigen Jodlösung oder von Chlorwasser;
2. Pyridin;
3. Ammoniakschwefelhydrat.

Alsdann braucht man nur ein Deckglas überzudecken und die Reaktion geht vor sich, sowie sich die 3 Tröpfchen vermischt haben. Es bilden sich dann Kristalle, von lebhaft roter Färbung und mannigfacher Form, die LECHA-MARZO als Jodhämatin- (resp. Chlor- oder Bromhämatin-) Kristalle ansieht. Das Alter des Blutes, Rost, Fette, Seifen usw. sollen auf die Kristallbildung ohne Einfluß sein.

PUPPE und KÜRBITZ haben diese Methode nachgeprüft und zunächst festgestellt, daß die Kristalle nicht aus Jodhämatin sondern aus Hämochromogen bestehen, denn auch ohne Jodlösung wurden Kristalle erhalten; also bei Vorhandensein von Blut + Pyridin + Schwefelammonium bildeten sich die Kristalle; ähnliche Beobachtungen machte schon BÜRKERS. Die Ansicht von KOBERT und DONOGANY, daß schon Pyridin allein gute Kristalle liefere, konnte als nicht richtig erkannt werden. PUPPE und KÜRBITZ stellten fest, daß Blut sowohl in flüssigem, wie getrocknetem und trocken erhitztem (25 Minuten auf 110—120°) nicht aber flüssig erhitztem Zustande, mit Pyridin und Schwefelammonium versetzt, stets Hämochromogen-Kristalle gibt, die sich nach leichtem Erwärmen noch deutlicher präsentieren. Alter Rost, Wasserstoffsuperoxyd verhindern die Darstellung der Kristalle im Gegensatz zu der TEICHMANNschen Probe in keiner Weise. Das Blut nimmt bei dieser Darstellungsweise immer eine leuchtend rote Farbe an und unterscheidet sich dadurch sehr sinnfällig von dem ganzen übrigen Präparat, besonders scharf von den grünen Schollen des Rostes. Mit dem Mikroskop kann man dann das Spektrum des Hämochromogens ohne weiteres erkennen (s. unten). Das Blut der verschiedenen Tiere liefert im wesentlichen dieselben Kristalle, eine Artdiagnose zu stellen, ist nicht möglich.

PUPPE und KÜRBITZ halten diese Probe dem TEICHMANNschen Häminnachweis für entschieden überlegen und empfehlen sie bei Untersuchung eines fraglichen Fleckens in erster Linie anzuwenden.

Die spektroskopische Untersuchung verdächtiger Flecke ist nach dem gegenwärtigen Stand der Wissenschaft für den Blutnachweis das wichtigste Hilfsmittel.

Denn nach den umfangreichen Untersuchungen von HAMMERL und KOCKEL läßt sich mit dem Spektralapparat nicht nur frisches, sondern auch altes, gefaultes, ausgewittertes und durch hohe Temperaturen verändertes Blut feststellen, selbst wenn sämtliche anderen Methoden im Stiche lassen.

Die Methode beruht bekanntlich auf der Eigenschaft des Blutes, in dünnen Lösungen vor einen Spektralapparat gebracht, in dem entworfenen Spektrum charakteristische dunkle Absorptionsstreifen, die sogenannten FRAUENHOFERschen Linien, hervorzurufen. Sie weisen je nach der Veränderung, die das Blut erlitten hat, gewisse Verschiedenheiten auf.

Wir haben in der forensischen Praxis drei Gruppen der Blutfarbstoffderivate zu unterscheiden:

1. die Hämoglobin- und Methämoglobingruppe,
2. die Hämatingruppe,
3. die Hämatoporphyringruppe.

Die Hämoglobingruppe wie die Hämatingruppe haben ihrerseits Stoffe, die teils sauerstoffreich, teils sauerstoffrei sind. Die letzteren werden aus den ersteren durch Zusatz reduzierender Mittel, wie z. B. Schwefelammonium, erhalten. Der Farbstoff des frischen normalen Blutes, das Oxyhämoglobin, besitzt zwei Absorptionsstreifen zwischen den Frauenhoferschen Linien D und E, im Grün und an der Grenze von Gelb und Grün (Fig. 1). Setzt man einer Lösung von Oxyhämoglobin ein reduzierendes

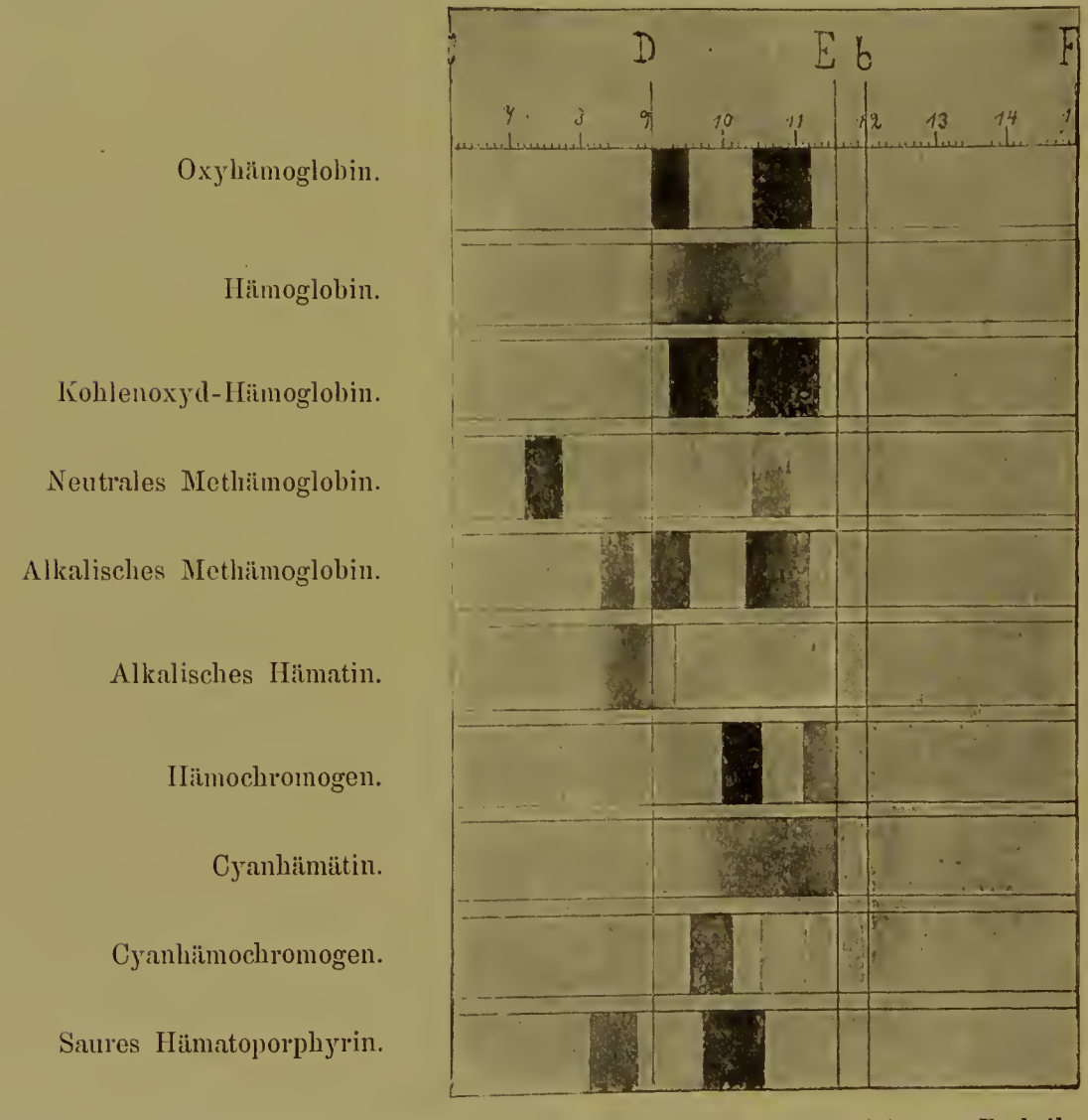


Fig. 1. Tafel der spektroskopischen Blutuntersuchung. (Nach Marx: Praktikum der gerichtlichen Medizin.)

Mittel hinzu, so entsteht Hämoglobin; sein Spektrum zeigt ein einziges breites Band, etwa entsprechend dem Zwischenraume zwischen den beiden Oxyhämoglobinstreifen und es ist außerdem nicht so dunkel wie diese.

In älteren, in Wasser mit bräunlicher Farbe löslichen Blutflecken, sieht man außer den beiden Oxyhämoglobinstreifen noch den schmalen Streifen des Methämoglobins im Rot, nahe der Frauenhoferschen Linie C. Das Methämoglobin besitzt den gleichen Gehalt an austreibbarem

Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin, nur daß die Bindung des Sauerstoffes im Methämoglobin eine ungleich innigere ist als im Oxyhämoglobin. Durch Zusatz von Schwefelammonium kann man hier ebenfalls noch das Hämoglobinspektrum erhalten.

Während Hämoglobin und Methämoglobin in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung löslich sind, so löst sich Hämatin nur in chemisch differenten Mitteln, wie in Säuren und Alkalien. Es gelingt deshalb nicht, ältere Blutflecke mit Wasser zu extrahieren und spektroskopisch zu untersuchen. Je nachdem wir Alkalien oder Säuren zur Lösung des alten Blutes anwenden, erhalten wir alkalisches oder saures Hämatin. Das letztere hat für die forensische Praxis eine geringe Bedeutung. Sein Spektrum zeigt einen ganz scharfbegrenzten Streifen in Rot, dessen Lage sich nicht ganz mit der des Methämoglobins deckt. Die übrigen Streifen liegen zwischen D und E. Die Darstellung des sauren Hämatins gelingt nach Marx am besten mittels erwärmten Eisessigs.

Weit wichtiger für die gerichtliche Blutuntersuchung ist das Spektrum des alkalischen Hämatins. Es besitzt einen schwachen, breiten Schatten (ähnlich dem des reduzierten Hämoglobins), der zum größeren Teil im Rot liegt und nach rechts hin etwas über die Linie D hinausragt. Alkalisches Hämatin erhält man durch Zusatz von Ammoniakalkohol oder einer wässerigen oder einer 1 %igen alkoholischen Kalilauge oder 10 %iger wässeriger Natronlauge.

Ebenfalls von großer Bedeutung ist das Spektrum des Cyanhämatins. Man erhält es durch Behandlung des Fleckens mit konzentrieter Cyankaliumlösung. Das Spektrum besteht aus einem breiten schwachen, ungefähr dem Hämoglobinbande entsprechen den Streifen, er liegt zwischen D und E.

Die entscheidende Diagnose auf Blut, die ebenso sicher ist, wie die Doppelreaktion des Oxyhämoglobins und des reduzierten Hämoglobins, wird dann gestellt, wenn nach Zusatz reduzierender Mittel zu der Lösung von alkalischen bzw. Cyanhämatin das Spektrum des Hämochromogens resp. Cyanhämochromogens entsteht; dieses ist dem Oxyhämoglobin ähnlich, nur mehr nach rechts verschoben; jenes zeigt einen scharfen Streifen im Grün und einen schwächeren nach rechts gelegenen (Strassmann). Die Hämochromogenreaktion läßt sich auch an dem sauren Hämatin, nachdem es vorher alkalisch gemacht worden ist, ausführen.

Das Spektrum des Hämochromogens hat für die gerichtsärztliche Praxis große Bedeutung, weil es sich aus den kleinsten Blutpartikelchen herstellen läßt und weil es auch noch in relativ schwachen Lösungen, in denen ein anderes Spektrum nicht mehr erkennbar sein würde, sehr deutlich hervortritt.

Die Darstellung des Hämochromogens ist nach Marx auch ganz besonders für das mikrospektroskopische Verfahren zu empfehlen. Er stellt in solchen Fällen das betreffende, nur mikroskopisch sichtbare Blutfarbstoffpartikelchen, das er vorher in verdünnte Kalilauge eingeschlossen hat, in den Spalt des Spektroskopes ein. Läßt er darauf zwischen Objektträger und Deckgläschen einen kleinen Tropfen Schwefelammonium zufließen, so verwandelt sich die zuvor gelbliche Farbe des fraglichen Partikelchen in ein Blaurot und läßt den ersten Streifen des Hämochromogens erkennen. Dieser Farbenumschlag ist nach Marx auch deutlich im Reagenzglase zu verfolgen.

Zum spektroskopischen Nachweis kleinster Blutspuren empfiehlt Leers neuerdings ebenfalls noch die Pyridinprobe. Sie wird in folgen-

der Weise ausgeführt: Die Extraktion des blutverdächtigen Objektes geschieht mit — bis zu 33 %iger — Kalilauge unter einem geringen Zusatz von absolutem Alkohol. Durch leichte Erwärmung oder mehrstündigen Aufenthalt im Brutschrank wird die Extraktion beschleunigt und erhöht. Zu dem erkalteten Extrakte kommen dann 2—3 Tropfen Pyridin. Nach Schütteln der Mischung wird ein Tropfen frisches Schwefelammon hinzugefügt, nach abermaligem Schütteln bleibt das Gemisch einige Minuten stehen. Es senkt sich dann die spezifisch schwerere Kalilauge in den unteren Teil des Röhrchens, während das mit dem gelösten Blutfarbstoff beladene Pyridin nach oben steigt. In dem klaren, blutfarbstoffreichen Pyridin erhält man ein deutliches Hämochromogenspektrum. Bleibt in der Probe das Hämochromogenspektrum trotzdem aus oder ist es sehr schwach, so pipettiert Leers das oben schwimmende Pyridin von der Kalilauge ab, um es auf einem über der Flamme erhitzten Objektträger einzuengen, und so den Blutfarbstoff noch weiter zu konzentrieren.

Eine Reihe von Schädlichkeiten, wie z. B. Überhitzung über eine Temperatur von 140°, sind imstande dem Hämatin die Fähigkeit, sich durch die genannten Säuren und Alkalien lösen zu lassen, zu nehmen. In diesen Fällen muß man die von Kratter in die forensische Praxis eingeführte Hämatoporphyrinprobe anwenden. Behandelt man ganz alte verkohlte, verwitterte, verfaulte Blutspuren mit konzentrierter Schwefelsäure, so zerfällt das Hämatin zu dem eisenfreien Hämatoporphyrin und einer anorganischen Eisenverbindung. Die Schwefelsäure nimmt dabei eine violette, die Blutflecke selbst nehmen eine leuchtende rubinrote Färbung an. Das so gewonnene Spektrum des sauren Hämatoporphyrins besteht aus einem dunklen Bande zwischen D und E, dem ein schwacher Schatten vorgelagert ist und aus einem weiteren in der Nähe von D gelegenen Streifen in Rot.

Die Ausführung dieser Methode kann gestört werden, wenn das Blut auf organischen Substanzen angetrocknet ist, die durch die Schwefelsäure verkohlt werden, so daß eine schwarze undurchsichtige Lösung entsteht. In diesen Fällen verfährt Ziemke in der Weise, daß er sich zunächst saures Hämatoporphyrin durch Übergießen des bluthaltigen Materials mit konzentrierter Schwefelsäure herstellt. Nach 24 Stunden filtriert er die Lösung durch Glaswolle, schüttet dann das Filtrat in destilliertes Wasser und neutralisiert es mit Ammoniak. Darauf wird der Niederschlag gewaschen, filtriert und getrocknet. Wird endlich der getrocknete Rückstand mit einem Gemisch von gleichen Teilen absolutem Alkohol und Ammoniaklösung verrieben und filtriert, so erhält man in dem roten Filtrat das Spektrum des alkalischen Hämatoporphyrins. Das Spektrum hat 4 Streifen, deren erster etwa in der Mitte von Rot liegt, der zweite beginnt etwas vor D und geht bis ins Grüne hinüber. Ein dritter liegt zwischen D und E; der vierte beginnt bei E und geht in eine absolute Verdunkelung über.

Was die erforderlichen Apparate anbelangt, so ist der beste Spektralapparat der von Steinheil modifizierte, von Bunsen und Kirchhoff angegebene, dreiarmige Apparat; für forensische Zwecke reicht jedoch auch ein anderer Apparat, das Spektroskop von Browning, vollkommen aus; seine Anwendung ist besonders dann zu empfehlen, wenn man mit dem Untersuchungsmaterial nicht zu sparen braucht. Handelt es sich um sehr dünne Lösungen, so empfiehlt es sich, das Browningsche Spektroskop in das von der Firma Schmidt & Hänsch angegebene Universalstativ einzuspannen und, ähnlich wie beim

Mikroskop, die in einem Glaszylinder befindliche Lösung in möglichst dicker Schicht zu betrachten.

Um auch die winzigsten Blutspuren auf spektroskopischem Wege nachweisen zu können, wurde von ABBE ein Mikrospektroskop konstruiert, über dessen Brauchbarkeit die Meinungen der einzelnen Autoren sehr geteilt sind.

Die mit Hilfe des Spektroskops zu untersuchenden Lösungen müssen vollkommen klar sein; ist das einmal nicht der Fall, so müssen sie durch ein dichtes Filter oder mittels einer BERKEFELDschen Filterkerze klar filtriert werden. Bezüglich der Handhabung der einzelnen Spektralapparate sowie der Beurteilung des spektroskopischen Befundes sei verwiesen auf BAUMERTS Lehrbuch der gerichtlichen Chemie, II. Bd., auf das Handbuch der gerichtlichen Medizin von SCHMIDTMANN und auf das Praktikum der gerichtlichen Medizin von H. MARX.

Sowohl die Häminprobe wie die spektroskopische Prüfung sind jede für sich, wenn sie positiv ausfallen, als für die Gegenwart von Blut durchaus beweisend anzusehen.

Leider sind nun in der gerichtsärztlichen Praxis die Fälle nicht selten, in denen wegen der Winzigkeit der Spuren oder schädlicher Einflüsse (s. diese bei den einzelnen Methoden) der chemische Nachweis von Blut mit den angegebenen Methoden nicht geführt werden kann, trotzdem es sich nach dem ganzen Aussehen der Flecke, sowie der ganzen Sachlage des Falles nur um Blutflecken handeln kann. Gerade bei der Winzigkeit der Spuren tritt dann die biologische Methode mit ihren großen Vorzügen, der Sicherheit des Nachweises in völlig farblosen Lösungen, in denen mittels der gebräuchlichen chemischen Methoden nicht die geringsten Spuren von Eiweiß und Blutfarbstoff mehr nachweisbar sind, besonders in ihr Recht, unter der Voraussetzung, daß hochwertige Antisera zur Verfügung stehen. Wenn auch hier betont werden muß, daß in diesen Fällen nur der Nachweis des in Frage kommenden Eiweißes geliefert ist, so wäre es bei dem Aussehen der Flecken, sowie den evtl. von dem Gericht bekannt gegebenen Vorgängen zu skrupulös gehandelt, wenn diese Flecke nicht mit der größten Wahrscheinlichkeit als Blutflecke bezeichnet würden.

2. Bestimmung der Art des Blutes.

Schon von Alters her hat man nach einer Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut gesucht.

Im Jahre 1829 hatte BARUEL diesbezügliche Untersuchungen angestellt und gefunden, daß ein mit Schwefelsäure behandeltes Blut einen dem betreffenden Tiere eigentümlichen Geruch, ähnlich dem Schweißgeruch, entwickelt. Da aber die Zuverlässigkeit dieser Methode allein von dem mehr oder weniger ausgebildeten Geruchsorgan des Sachverständigen abhängig ist und sich über den Geruch ebenso wie über den Geschmack bekanntlich streiten läßt, so hat dieses Verfahren begreiflicherweise eine praktische Bedeutung nicht erlangt.

Man hat dann versucht, auf Grund der mikroskopischen Beschaffenheit der roten Blutkörperchen, eine Differenzierung der einzelnen Blutarten zu ermöglichen. Bei Untersuchungen von frischen Blutsorten hat man auf diese Weise gefunden, daß bezüglich der Form und Größe der Blutkörperchen mehr oder weniger große Unterschiede bestehen. So unterscheidet sich Menschen- und Säugetierblut

von dem Blute anderer Wirbeltierklassen (Vögel, Amphibien, Reptilien, Fische) dadurch, daß ihre roten Blutkörperchen nicht elliptische, kernhaltige Gebilde darstellen, sondern runde, bikonkave, kernlose Scheiben.

Sobald das Blut von Vögeln, Fischen usw. in Betracht kommt, ist es zu empfehlen, die mikroskopische Untersuchung vorzunehmen.

So gelang es uns häufig, einen forensischen Fall schnell aufzuklären, z. B. einen Hühnerdiebstahl. Auch Hauser weist auf die Wichtigkeit der mikroskopischen Untersuchung in solchen Fällen hin. So war ein Mann beschuldigt, seinen Geschlechtstrieb an einer Gans befriedigt zu haben, während er angab, daß das Blut an seiner Hose davon herrühre, daß er neben einer menstruierenden Frauensperson gelegen habe. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Vorhandensein von kernhaltigen roten Blutkörperchen. Damit war der Fall erledigt.

Die Blutkörperchen des Menschen übertreffen die der anderen Säugetiere durch ihre Größe, obwohl die Differenz gegenüber einzelnen Säugetierarten nur eine geringe ist, sie beträgt z. B. zwischen Mensch und Hund noch weniger als den tausendsten Teil eines Millimeters.

Übersicht über die Größe der Blutkörperchen (nach Landois Lehrbuch der Physiologie, 10. Aufl., 1900, pag. 27).

Münzenförmige Blutkörperchen	Elliptische Blutkörperchen	
	kleiner Durchmesser	großer Durchmesser
Elefant . . . 9,4 μ	Lama . . . . 4,2 μ	Lama . . . . 7,5 μ
Mensch . . . 7,5 μ	Taube . . . . 6,5 μ	Taube . . . . 14,7 μ
Hund . . . . 7,2 μ	Frosch . . . . 16,3 μ	Frosch . . . 23,0 μ
Kaninchen . . 7,16 μ	Triton . . . . 19,5 μ	Triton . . . 29,3 μ
Katze . . . . 6,2 μ	Proteus . . . 35,6 μ	Proteus . . . 58,2 μ
Schaf . . . . 5,0 μ		
Ziege . . . . 4,25 μ		
Moschustier . . 2,5 μ		

Bei der Untersuchung ganz frischer Blutflecken, die dem Gerichtsarzt naturgemäß sehr selten zur Begutachtung vorgelegt werden, ist immerhin noch eine gewisse vorsichtige Beurteilung möglich, wenn sehr zahlreiche Messungen an den in ihren Größenverhältnissen verschiedenen Blutkörperchen vorgenommen werden. Es gelingt z. B. nach einiger Übung, bei frischem Blut die zur Bestimmung vorgelegten Blutarten des Menschen und Schafes bezüglich ihrer Herkunft zu bestimmen. Ganz unsicher aber werden die Bestimmungen, wenn es sich um Blutsorten handelt, die bezüglich der Größe ihrer Blutkörperchen denen des Menschen sich nähern, wie z. B. des Kaninchens und Hundes.

Nun handelt es sich aber in der gerichtsärztlichen Praxis fast ausnahmslos um angetrocknetes Blut. Wie oft ist da schon wegen der Vergänglichkeit der roten Blutkörperchen die Frage nicht zu entscheiden, ob überhaupt ein Blutfleck vorliegt; ob diese Blutkörperchen aber von einem Menschen oder Tier herstammen, diese Frage läßt sich selbst nach Anwendung der bekannten Zusatzflüssigkeiten nicht ent-

scheiden, denn es ist nicht möglich, den Grad der Schrumpfung und den der Aufquellung durch die Lösungsmittel sicher zu berechnen, handelt es sich doch hier um Verschiedenheiten in der Größe der Blutkörperchen, die, wie wir gesehen, nur wenige Mikromillimeter betragen.

Auch hat man versucht, die Form der Hämoglobinkristalle als ein weiteres differentielles Merkmal für die Erkennung der einzelnen Blutarten zu verwerten. von Dvornitschenko sowie Moser — die neuerdings die alten Versuche von Hüffner, Misuracas, Moncton-Copemans usw. wieder aufgenommen haben — wird angegeben, daß die Hämoglobinkristalle des Menschen ziemlich groß sind und meist in rechtwinkligen, breiten Platten auftreten, während die Hämoglobinkristalle verschiedener Tierblutsorten mehr nadelförmige Gebilde darstellen, die oft in Büschelform angeordnet sind. Was die Kritik dieser Methode anbetrifft, so ist es nach Kockel wohl möglich, daß auf diesem Wege gelegentlich einmal ermittelt werden kann, ob Menschen- oder Tierblut vorliegt; da aber die zur forensischen Blutuntersuchung kommenden Blutspuren oft sehr klein, häufig verwittert, durch Wasser zerstört oder sonst wesentlich verändert sind, so werden sich der Darstellung der Hämoglobinkristalle meist unüberwindliche Hindernisse entgegenstellen. Es wird daher dieses Verfahren für die forensische Blutuntersuchung kaum in Frage kommen.

Größere Beachtung verdienen die Untersuchungen, die Magnanimi sowie Ziemke auf Grund älterer Beobachtungen von Körber und Krüger ausgeführt haben. Die genannten Forscher haben festgestellt, daß das Oxyhämoglobin des Menschen unter Einwirkung von Kalilauge sich wesentlich später zersetzt als das Oxyhämoglobin zahlreicher anderer Säugetiere. Ziemke hat diese Eigenschaft des Blutes zuerst praktisch verwandt, indem er zu zwei kolorimetrisch gleichwässerigen Lösungen von Menschen- und Tierblut verdünnte Kalilauge zusetzte und diese dann spektroskopisch beobachtete.

Neuerdings hat van Itallie eine weitere Differenzierungsmethode zwischen Menschen- und Tierblut angegeben. Sie beruht auf der Beobachtung, daß durch Erhitzen des Blutes bei bestimmten Temperaturen die bekannte katalytische Wirkung auf Wasserstoffsuperoyd vernichtet werden soll.

Er fand, daß das Blut von Menschen und Affen nach halbstündiger Erhitzung auf 63 ° noch Katalyse hervorrief, während das bei Blut von Pferden, Rindern, Schweinen, Ziegen, Schafen, Kaninchen, Ratten, Hasen, Hühnern, Tauben, Fischen bei gleicher Behandlung nicht der Fall war. Die gleichen Resultate erzielte er bei Untersuchung von alten auf Leinewand angetrockneten Blutflecken. Die zuerst von Uhlenhuth*) und dann auf seine Anregung von Daske weiter fortgeführten Untersuchungen haben, ebenso wie diejenigen von H. Pfeiffer und P. Fraenkel, die Angaben van Itallies nicht bestätigt. Bei einer ganzen Anzahl von angetrockneten Tierblutproben hatte das H_2O_2 zersetzende Blut nach halbstündiger Erhitzung auf 63 ° noch eine erhebliche katalytische Kraft; so besonders das Blut von Schwein, Wildschwein, Hirsch, Iltis, Ratte, Eule, Gans, Taube (Daske), andererseits hatte auch Menschenblut bisweilen seine katalytische Kraft verloren.

*) XV. Intern. med. Kongreß zu Lissabon, April 1906.

Aus diesen Befunden ergibt sich zur Genüge, daß die Methode van Itallies für die forensische Differenzierung von Menschen- und Tierblut nicht ernstlich in Frage kommen dürfte.

Wie bereits oben erwähnt verfuhr L. Deutsch bei der Unterscheidung von Menschen- und Tierblut in der Weise, daß er Kaninchen mit menschlichen Blutkörperchen vorbehandelte und die auf diese Weise gewonnenen hämolytischen Sera auf das zu untersuchende Blut einwirken ließ. Handelte es sich um Menschenblut, so wurden die roten Blutkörperchen aufgelöst. Da diese Methode aber nur bei intakten roten Blutkörperchen gelingen kann, eine Voraussetzung, die in gerichtlichen Fällen wohl nie erfüllt ist, so hat sie eine praktische Bedeutung nicht erlangt.

Weiterhin haben Marx und Ehrnrooth die Tatsache, daß Blutkörperchen durch ein heterologes Serum agglutiniert werden, für die Unterscheidung von Menschen- und Tierblut zu verwerten gesucht. Sie verfahren folgendermaßen:

„Von dem Untersuchungsmaterial wird durch Zusatz einiger Tropfen 0,6%iger Kochsalzlösung eine möglichst konzentrierte Lösung hergestellt. Die Extraktion muß lange genug, oft 24—72 Stunden, erfolgen, um eine genügend konzentrierte Lösung zu erhalten. Ein der eigenen Fingerkuppe entnommener Tropfen Blut wird etwa 5—6 Sekunden mit der Untersuchungslösung auf dem Objektträger gemischt und dann mit einem Deckglas bedeckt. Ist nun in der zu prüfenden Lösung Menschenblut oder Affenblut, so tritt keine Veränderung der Blutkörperchen ein, handelt es sich dagegen um Tierblut, so klumpen sich die Blutkörperchen schnell zu kleinen Häufchen zusammen."

Wie die Autoren ausdrücklich angeben, ist der positive Ausfall der Reaktion an eine konzentrierte Blutlösung gebunden. Abgesehen davon, daß es in der Praxis, besonders bei älteren Blutflecken, sehr häufig nicht gelingt eine genügend konzentrierte Blutlösung zu erhalten, so haben auch die Untersuchungen Uhlenhuths bei mehreren 2—3 Jahre alten Rinderblutproben Mißerfolge zu verzeichnen gehabt. Seine weiteren orientierenden Versuche mit frischem Rinderserum zeigten dann auch, daß einzelne dieser Sera nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 20 und erst nach einer Stunde eine Agglutination hervorriefen; ähnliche Beobachtungen machte Uhlenhuth auch bei Pferdeserum. Andererseits erwiesen sich mehrere 6—7 Jahre steril aufbewahrte Pferdesera noch gut wirksam. Ed. Martin hat dann diese Untersuchungen an alten von Uhlenhuth aufbewahrten Blutproben fortgesetzt und weiterhin bestätigen können, daß angetrocknete Tierblutproben schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit ihre agglutinierenden Eigenschaften verlieren können. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß die Agglutinine variable Faktoren sind, die bald stärker, bald schwächer wirken und die auch im angetrockneten Blute im Laufe der Zeit zugrunde gehen können.

Außerdem kommt es auch nicht selten vor, daß das menschliche Blutserum auch Blutkörperchen anderer Individuen agglutiniert (Ascoli, Landsteiner und Richter). Diese sogenannten Isoagglutinine, auf die mit Rücksicht auf die Marx-Ehrnroothsche Methode Ed. Martin und Galli-Valerio u. a. besonders aufmerksam gemacht haben, sollen nach den Angaben von Marx sich im günstigsten Falle ca. 2—4 Wochen im angetrockneten Blute halten. Ed. Martin hat sie jedoch in einem Falle

noch nach mehreren Jahren nachweisen können. Diese Tatsachen, die zu Täuschungen Veranlassung geben können, sind sehr wohl zu beachten.

Das Marx-Ehrnroothsche Verfahren kann also als ein zuverlässiges Verfahren zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut nicht in Betracht kommen; als orientierende Vorprobe kann es jedoch immerhin herangezogen werden.

Eine sichere Unterscheidung von Menschen- und Tierblut, überhaupt die Feststellung einer bestimmten Blutart, ist erst durch die von Uhlenhuth sowie von Wassermann und Schütze für forensische Zwecke ausgearbeitete Methode ermöglicht, wie sie im folgenden ausführlich beschrieben werden soll.

Gang des biologischen Verfahrens*).

(Nach Uhlenhuth.)

a) Vorversuch zur Bestimmung der Wirksamkeit des spezifischen Serums.

Die Verarbeitung des Untersuchungsmaterials für die biologische Methode ist erst dann in Angriff zu nehmen, wenn der Untersucher sicher ist, ein brauchbares spezifisch wirkendes Serum zu besitzen und nachdem er sich in einem Vorversuch von seiner Wirksamkeit überzeugt hat. Die Vorprüfung nehmen wir im Gegensatz zur eigentlichen genauen Titerbestimmung (s. weiter hinten) nicht mit genau hergestellten Verdünnungen und nicht ausschließlich mit Serum vor, sondern, um möglichst der Praxis gleiche Verhältnisse zu schaffen, mit angetrocknetem Blut. Zu diesem Zwecke soll sich jeder, der sich mit der Ausführung von Untersuchungen mittels der biologischen Methode beschäftigt, angetrocknetes Blut vorrätig halten. Zur Gewinnung desselben kann man sich der Antrocknungsmethode in Petrischalen (Uhlenhuth), auf Fließpapier, Gaze, Leinewand oder in Sand bedienen. Die Eintrocknung auf Fließpapier oder Gaze hat den Vorzug, daß eine schnellere Auslaugung stattfindet, und daß die so gewonnenen Lösungen immer klar sind (Nuttall). Ferner wird man zur Vermeidung großer Altersunterschiede gut tun, wenigstens bei den leicht zu beschaffenden und für forensische Fälle vorzugsweise in Frage kommenden Blutsorten, wie Menschen-, Rind-, Pferde-, Schweine-, Hammel-, Reh-, Hasen-, Ziegen-, Hunde- und Kaninchenblut, von Zeit zu Zeit (alle 4—6 Wochen) frisches Blut in der oben geschilderten Weise zu konservieren. Diejenige Blutart, auf welche das Untersuchungsmaterial geprüft werden soll, wird dann zur Vorprüfung benutzt. Zur Herstellung der genügenden Bluteiweißlösung wird eine geringe Menge des angetrockneten Test-Blutmaterials in ein gewöhnliches Reagenzglas gebracht und hierzu etwa 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung gesetzt. Ohne zu schütteln — um eine mög-

*) Wir halten uns im allgemeinen an die von Uhlenhuth und Beumer gegebenen Vorschriften.

lichst klare Lösung zu erzielen — bleibt das Gemisch so lange stehen bis eine genügende Menge Eiweiß in Lösung übergegangen ist. Man erkennt das daran, daß beim Schütteln eines vorsichtig in ein zweites Reagenzglas übergegossenen Probequantums (2 ccm) eine längere Zeit stehenbleibende Schaumbildung auftritt. Ist das der Fall, so wird auch der Rest der Lösung in das zweite Röhrchen gegossen; beim Übergießen hat man, besonders wenn man angetrocknetes Blut benutzt hat, zu vermeiden, den noch nicht ganz aufgelösten Bodensatz aufzurühren. Die so gewonnene Lösung ist dann auf ihre Klarheit zu prüfen. Sollte sie nicht ganz klar sein, so muß sie filtriert werden und zwar genügt hier in fast jedem Falle ein Papierfilter.

Da für die biologische Reaktion eine Verdünnung des Untersuchungsmaterials von etwa 1 : 1000 verlangt wird, so hat man natürlich auch bei der Vorprobe diesen Konzentrationsgrad herzustellen. Man erkennt die geforderte Verdünnung, abgesehen von der beim Schütteln entstehenden Schaumbildung, an dem Ausfall der mit einer kleinen Menge von etwa 1 ccm unter Zusatz eines Tropfens 25 %iger Salpetersäure angestellten Kochprobe. Es entsteht nämlich bei dieser Reaktion in einer Verdünnung von 1 : 1000 eine leicht opaleszierende Eiweißtrübung. Da nun die ausgelaugte Bluteiweißlösung im allgemeinen konzentrierter ist, so muß sie so lange mit steriler 0,85 %iger Kochsalzlösung verdünnt werden, bis die Salpetersäurekochprobe den richtigen Grad der Verdünnung von annähernd 1 : 1000 angibt.

Für die Ausführung der Serumprüfung, wie überhaupt der biologischen Reaktion, benutzt man zweckmäßig das von Uhlenhuth und Beumer angegebene Reagenzglasgestell (Fig. 2). Es ist so eingerichtet, daß es für 12 kleine Reagenzröhrchen von je 11 cm Länge und 0,9 cm

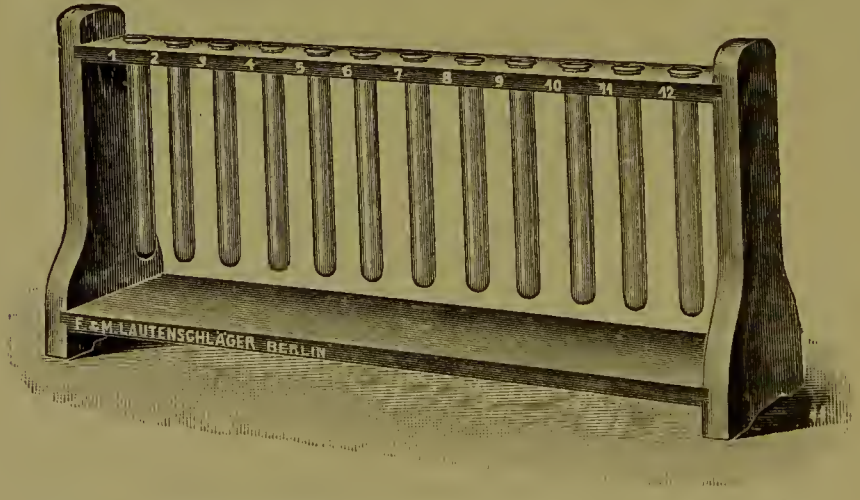


Fig. 2. Reagenzglasgestell nach Uhlenhuth und Beumer.

Durchmesser Platz hat. An ihren offenen Enden haben die Röhrchen nach außen umgebogene Ränder, so daß man sie in den Löchern des Gestells pfeifenartig aufhängen kann. Der Übersichtlichkeit halber sind die Löcher, in welche die Röhrchen hineingehängt werden, mit Nummern von 1—12 versehen. Das Aufhängen der Röhrchen hat den Vorteil, daß man die am Boden des Röhrchens auftretende Präzipitinreaktion gut beobachten kann.

Ein ähnliches Reagenzglasgestell ist von E. Friedberger angegeben, es unterscheidet sich von dem Uhlenhuthschen eigentlich nur dadurch, daß die Röhrchen, die einen lichten Durchmesser von nur 4 mm und eine Länge von 7 cm haben, in einem Drahtgeflechte hängen (Fig. 3).

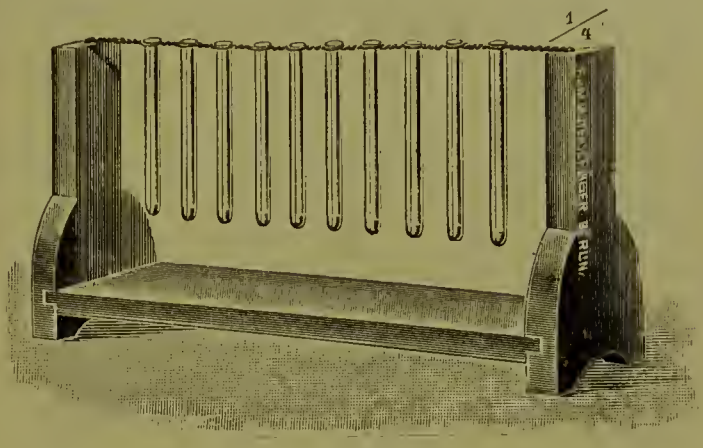


Fig. 3. Reagenzglasgestell nach E. Friedberger.

W. A. Schmidt benutzt für die Ausführung der biologischen Reaktion ein ähnliches kleines Gestell (Fig. 4), nur hängen hier die einzelnen Röhrchen nicht, sondern werden in Vertiefungen der unteren Querplatte gestellt. Um die am Boden der Röhrchen auftretende Trübung gut zu erkennen, sind die Röhrchen mit verdickten Kuppen von 1—2 cm Höhe versehen. Die untere Querplatte des Gestells trägt eine Klammer, um ein Blatt Papier zum Aufschreiben der Befunde zu fixieren.

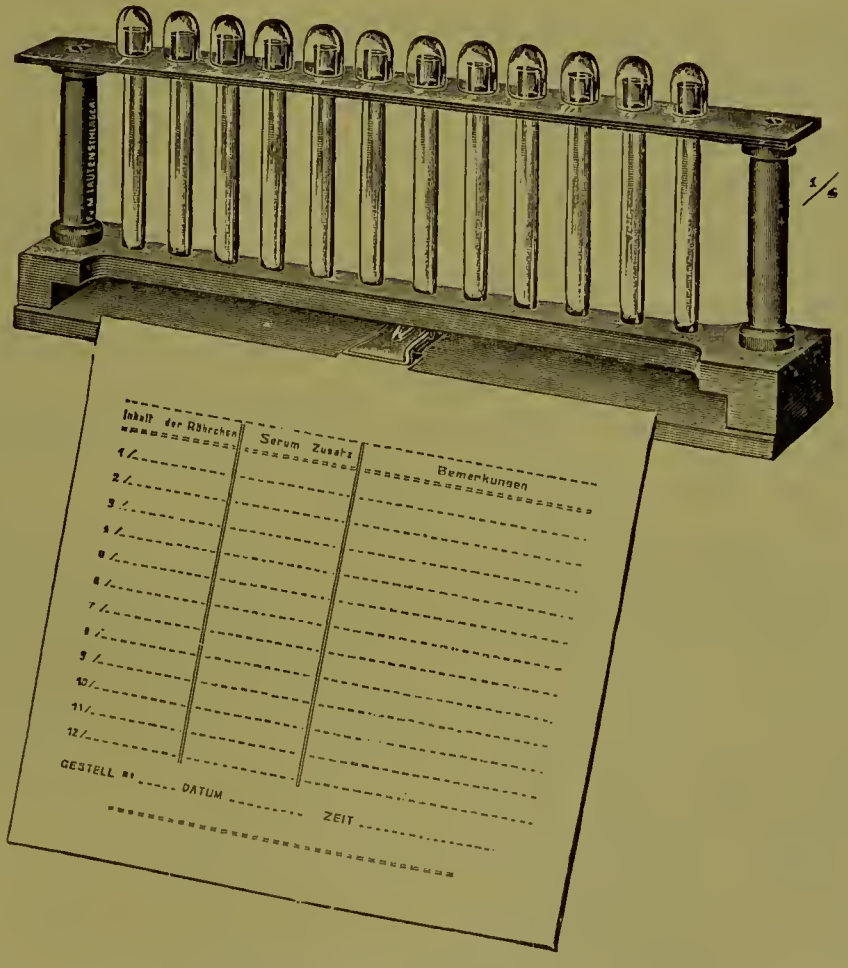


Fig. 4. Reagenzglasgestell nach W. A. Schmidt.

Für die Serumprüfung werden 3 gleichmäßig dicke und absolut saubere Reagenzröhrchen ausgesucht und in das Gestell hineingehängt. Im durchfallenden Licht, indem zwischen Lichtquelle und Reagenzglas-

gestell ein schwarzes Brettchen oder dgl. gehalten wird, sind die leeren Röhrchen vor Ansetzen jeder biologischen Reaktion nochmals auf ihre Sauberkeit zu prüfen. Denn nicht selten kann man gerade bei ganz neuen Röhrchen beim Übergang in die Kuppe einen horizontalen grauweißen Ring, der bei nicht sorgfältiger Herstellung der Gläschen entstehen soll, beobachten. Dieser kann dann leicht eine schwache spezifische Reaktion vortäuschen.

Mit einer sterilen Pipette wird in Röhrchen 1 und 2 je 1 ccm der verdünnten Blutlösung gebracht, während Röhrchen 3 mit demselben Quantum steriler Kochsalzlösung (0,85 %) beschickt wird. Mit einer sterilen graduierten Pipette (1 ccm mit 100 Teilstrichen) werden zu Röhrchen 1 und 3 je 0,1 ccm des zu prüfenden absolut klaren Antiserums gesetzt, während in Röhrchen 2 0,1 ccm normales, ebenfalls vollständig klares, normales Kaninchenserum gegeben wird. Ohne zu schütteln wird die Reaktion im durchfallenden Lichte betrachtet. Tritt nun in Röhrchen 1 sofort oder spätestens nach zwei bis fünf Minuten eine hauchartige, in der Regel am Boden beginnende Trübung auf, die sich nach weiteren fünf Minuten in eine wolkige umwandelt und sich weiterhin als Bodensatz absetzt, während die Lösungen in den beiden übrigen Röhrchen völlig klar bleiben, so ist das Serum brauchbar. Die bei Zimmertemperatur ausgeführte Reaktion soll spätestens nach 20 Minuten abgeschlossen sein (s. pag. 49).

b) Behandlung des Untersuchungsmaterials zwecks Prüfung mittels der biologischen Methode.

Die auf fester Unterlage eingetrockneten Blutflecke werden mit einem reinen sterilen Instrument abgekratzt, indem man zweckmäßig einen großen Bogen weißen Schreibpapiers als Unterlage benutzt. Die pulverisierte Masse wird vorsichtig in ein steriles Reagenzröhrchen geschüttet und mit 0,85 %iger Kochsalzlösung zur Auflösung gebracht. Hat man nur ganz geringe Spuren von Material, so kann man auch Wachs um den Fleck herumlegen und in der so gebildeten Mulde den Fleck mit Hilfe von Kochsalzlösung auflösen. Andere Lösungsmittel wie 0,85 %ige Kochsalzlösung sind nicht zu verwenden.

Es sind eine ganze Reihe anderer Lösungsmittel empfohlen worden. Uhlenhuth und Beumer haben fast alle vorgeschlagenen Flüssigkeiten einer sorgfältigen Prüfung unterzogen. Bei diesen Untersuchungen zeigte es sich, daß beliebiges Blutserum zu Leitungswasser getropft, sofort eine Trübung, bisweilen sogar einen Niederschlag hervorrief. Diese Trübungen, die wohl auf Ausfällung von Globulinen zurückzuführen sind, war bei den verschiedenen Serumsorten verschieden stark. Ganz besonders eklatant war sie bei Zusatz von Pferde-, Schaf- und Rinderserum. Auch Kaninchenserum erzeugte in Leitungswasser eine, wenn auch schwächere, so doch deutliche Trübung. Ganz ähnlich wie Leitungswasser verhielt sich das destillierte Wasser und $^1/_{10}$ physiologische Kochsalzlösung (Strube), wenn auch die Trübung geringer war, wenigstens bei Zusatz von normalem Kaninchenserum. Auch 0,1 %ige Natrium bicarbonatum-Lösungen (Kratter) geben mit Serum vom Pferd und Rind versetzt leichte Trübungen; bei Kaninchenserum wurden diese nicht beobachtet. 1 bis 2 %ige Natr. bicarbon.-Lösungen, 2 %ige Boraxlösungen sowie 0,1 %ige Sodalösung (Ziemke),

konzentrierte Cyankalilösung blieben ebenso wie die physiologische (0,8 %ige) und doppeltphysiologische (1,6 %ige) Kochsalzlösung klar (s. Tabelle 1). Es zeigte sich ferner, daß in den Borax-, Natrium bicarbon.- und Sodalösungen, sowie in den Cyankaliumlösungen beim Kochen eine Ausfällung der Eiweißkörper des zugesetzten Serums nicht stattfand; etwas vermindert war dieselbe auch in Aqua dest. Diese Verhältnisse entsprechen

Tabelle 1. (Nach Uhlenhuth und Beumer.)

Es werden 10 Tropfen verschiedener normaler Sera getropft in 4 ccm Flüssigkeit und zwar:

Serum von:	Leitungswasser	dest. Wasser	$^1/_{10}$ phys. NaCl-Lösung	phys. NaCl-Lös.	Alkalien 0,1 %ig. Sodalösungen
Rind . . .	starke Trüb. flock.	starke Trübung	deutl. Trübg.	klar	klar
Schaf . . .	starke Trüb. flock.	leichte Trübung	leichte Trübg.	klar	klar
Pferd . . .	sehr starke Trübung, Niederschl.	sehr starke Trübung, Niederschl.	starke Trübg.	klar	klar
Schwein . .	deutl. Trübung	leichte Trübung	leichte Trübg.	klar	klar
Kaninchen .	leichte Opalesz.	sehr leichte Trübung	sehr leichte Trübung	klar	klar
Menschen .	deutl. Trübung	sehr geringe Trübung	sehr geringe Trübung	klar	klar

völlig dem chemischen Gesetz, daß die Ausfällung der Eiweißkörper an einen bestimmten Salzgehalt und bestimmte Reaktion gebunden ist. Ähnliche Verhältnisse bestehen auch, wenn angetrocknetes Blut in solcher Flüssigkeit aufgelöst wird (s. Tabelle 2). Eine Lösung von Blut in 0,1 %iger Soda- sowie Boraxlösung gerinnt beim Kochen nicht. Was

Tabelle 2. (Nach Uhlenhuth und Beumer.)

3 Tropfen Rinderantiserum (Kaninchen) werden getropft in 3 ccm:

Leitungswasser — leichte Trübung,
phys. NaCl-Lösung — klar,
doppelt phys. NaCl-Lösung — klar,
$^1/_{10}$ %ige phys. NaCl-Lösung — leichte Opaleszenz,
dest. Wasser — Trübung,
0,1 %ige Sodalösung — klar,
2,0 %ige Natrium bic. — klar,
2,0 %ige Boraxlösung — klar,
1,0 %ige Boraxlösung — klar,
0,1 %ige Boraxlösung — klar.
Cyankaliumlösung — klar,
0,1 %ige Natrium bic. — klar.

3 Tropfen Rinderantiserum werden getropft in 3 ccm Rinderblutlösung hergestellt mit:

Leitungswasser — sehr starke Trübung,
phys. NaCl-Lösung — starke Trübung (Reaktion),
doppelt phys. NaCl-Lösung — starke Trübung (Reaktion),
$^1/_{10}$ phys. NaCl-Trübung — sehr starke Trübung (Reaktion),
dest. Wasser — starke Trübung (Reaktion),
0,1 %ige Sodalösung — sehr leichte Trübung,
2,0 %ige Natrium bic. — sehr leichte Trübung,
2,0 %ige Boraxlösung — sehr leichte Trübung,
1,0 %ige Boraxlösung — kaum sichtbare Trübung,
0,1 %ige Boraxlösung — kaum sichtbare Trübung,
Cyankaliumlösung — absolut klar,
0,1 %iges Natrium bic. — sehr starke Trübung.

nun aber von geradezu ausschlaggebender Bedeutung ist, das ist die Beobachtung, daß auch in Soda- und Boraxlösung die biologische Reaktion bei Zusatz des Antiserums zwar eintritt, daß sie aber ganz wesentlich bezüglich der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens beeinträchtigt wird, eine Tatsache, die vollkommen mit der Beobachtung übereinstimmt, daß die Präzipitine sich in Alkalien auflösen (Tchistowitch). Aus allen diesen Erfahrungen geht hervor, daß diese Flüssigkeiten für die Auflösung von Blutflecken unter allen Umständen verworfen werden müssen.

Handelt es sich um Material, welches in die Unterlage eingesogen ist, wie in Kleidungsstücke, Leinewand usw., so wird der Fleck herausgeschnitten, mit der Schere möglichst fein zerkleinert, mit Nadeln zerzupft und in einem kleinen Schälchen oder im Reagenzglase möglichst mit geringer Menge physiologischer 0,85 %iger steriler Kochsalzlösung übergossen. Bei diesem Verfahren gewinnt man gewöhnlich bereits nach einer Stunde eine vollständige Auflösung der eingetrockneten Eiweißkörper. Handelt es sich um altes Material, so dauert die Auslaugung erheblich länger, bisweilen bis zu 24 Stunden. Es ist dann, um Bakterienwachstum möglichst zu verhindern, nötig, die auszulaugende Flüssigkeit in den Eisschrank zu stellen.

Die genügend ausgelaugte Flüssigkeit wird dann filtriert. Die Filtration erfolgt zunächst mit gehärteten Papierfiltern (Schleicher und Schüll, Nr. 575, 603 oder 605) und nur wenn erfolglos durch Berkefeldsche Kieselgur-Filter (siehe unten). Bei geringen Mengen von Untersuchungsflüssigkeit verwendet man vorteilhaft die von uns empfohlenen Mikrofiltrierabfüllapparate (Fig. 5 u. 6). Man benutzt dabei die von Silberschmidt angegebenen Kerzen aus Kieselgur. Die engporigen Porzellanfilter sind weniger zu empfehlen, denn sie haben den Nachteil, daß ein Quantum des präzipitabelen Eiweißes zurückgehalten, und daher die Niederschlagbildung eine geringere wird.

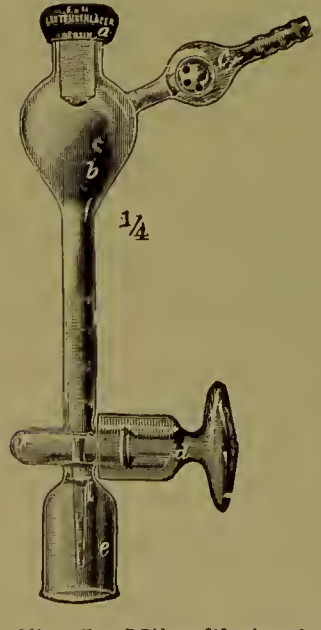


Fig. 5. Mikrofiltrierabfüllapparat nach Uhlenhuth und Weidanz.

Der Apparat besteht aus der Kerze (*a*), die mittels einer Gummikappe mit der Saugflasche (*b*) in Verbindung steht; das seitliche Ansatzrohr (*c*) sowie die Absaugevorrichtung entspricht genau den weiter unten bei der Filtration beschriebenen Angaben. Das untere zu einem Röhrchen ausgezogene Ende des Sauggefäßes ist genau graduiert, so daß die Flüssigkeit hier direkt gemessen und steril entnommen werden kann. Will man den mit umgeschmolzener Hülle versehenen Abfüllhahn (*d*) vermeiden, so braucht man den Apparat nur in der Weise zu modifizieren (Fig. 6), daß man das graduierte Röhrchen

Fig. 6. Modifizierter Mikrofiltrierabfüll-Apparat nach Uhlenhuth und Weidanz.

mittels Druckschlauchs und Schraubenquetschhahn (*d*) mit dem Abflußrohr (*g* bzw. *e*) verbindet.

Auftretende Schaumbildung beim Schütteln ist das Zeichen einer für die Reaktion brauchbaren Lösung. Nicht immer gelingt es, diese Schaumbildung hervorzurufen, besonders, wenn der Fleck längere Zeit Sonne und Staub ausgesetzt gewesen, auf fettiger Unterlage angetrocknet oder auch an Eisen angerostet war. Es kann die mangelnde Schaumbildung darauf beruhen, daß nicht genügend Eiweißstoffe in Lösung übergegangen sind, oder daß in derselben außerdem noch Stoffe vorhanden sind, die eine Schaumbildung verhindern wie z. B. Fett. Auch in den ersteren Fällen ist die Reaktion nicht aussichtslos, wenn wir ein hochwertiges Serum benutzen, denn ein den von UHLENHUTH gestellten Anforderungen genügendes Serum ist imstande, selbst noch in Verdünnungen von 1 : 20 000 nach 5 Minuten eine deutliche Reaktion auszulösen (siehe Titerbestimmung).

In ganz analoger Weise wie bei der Vorprobe wird auch von der zu untersuchenden Auslaugungsflüssigkeit eine Eiweißverdünnung von etwa 1 : 1000 hergestellt. Ist das geschehen, so muß möglichst bald die biologische Prüfung vorgenommen werden, denn die Aufbewahrung des Extraktes etwa bis zum nächsten Tage ist nicht angängig wegen des die Flüssigkeit trübenden Bakterienwachstums. Die von LOELE empfohlene Konservierung der Blutauszüge mit einer Formalinkalklösung, ist auf Grund der Nachprüfungen von MERKEL nicht zu empfehlen (s. unten).

Zugleich mit der Vorbereitung des Untersuchungsmaterials werden aus Partikelchen von an- resp. eingetrocknetem Blute die Kontrollösungen in derselben Weise hergestellt, und zwar wählt man hierzu Blutlösungen irgendwelcher Haustiere. Handelt es sich bei der Untersuchung um einen auf einem Stoff eingetrockneten Blutfleck, so hat man noch eine weitere Kontrollösung nur aus dem in Frage kommenden Stoff herzustellen.

Vor dem Ansetzen des Versuches sind die einzelnen Lösungen auf ihre Reaktion gegen Lackmuspapier zu prüfen. Die Lösungen sollen neutral reagieren. Stark sauere oder stark alkalische Lösungen sind zu verwerfen, kommen praktisch auch wohl bei der starken Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit kaum vor. Reagieren sie ausnahmsweise sauer (Leder, Baumrinde s. u.), so werden sie mit 0,1 %iger Sodalösung neutralisiert. W. A. SCHMIDT wendet als Neutralisationsmittel für die Untersuchungslösung Magnesiumoxyd an.

Nachdem sämtliche Lösungen hergestellt sind, kann zur Ausführung der biologischen Reaktion geschritten werden. Als allgemeiner Arbeitsgrundsatz ist zu beachten, daß alle Gefäße, Röhrchen und Instrumente peinlich sauber und steril, und daß sämtliche Flüssigkeiten, die bei der Ausführung der Methode benutzt werden, absolut klar sind. Die Sterilität der Gefäße und Instrumente ist notwendig, um eventuell anhaftende fremde Eiweißsubstanzen durch die Hitze zu zerstören. Es ist auch zu beachten, daß die Röhrchen infolge häufiger Sterilisation in trockener Hitze zahlreiche außerordentlich feine Unebenheiten aufweisen können, die, falls sie sich in größerer Menge an der Kuppe des Glases befinden, eine beginnende spezifische Trübung vortäuschen können.

c) Ausführung der biologischen Reaktion.

Behufs Ausführung der biologischen Reaktion werden in das kleine Reagenzglasgestell (pag. 42, Fig. 2) sechs bzw. sieben möglichst gleich dicke und gleich lange Röhrchen gehängt; sie sind auf dem Holzgestell mit Nummern eins bis sieben bezeichnet.

In Röhrchen I und II werden mit einer Pipette je 1 ccm der zu untersuchenden Blutlösung gebracht. Zu Röhrchen III wird 1 ccm der dem zugehörigen Antiserum entsprechenden Blutlösung gegeben. Röhrchen IV und V werden mit je 1 ccm der Kontrollblutlösungen (z. B. Schweine- und Rinderblut) beschickt. In Röhrchen VI wird 1 ccm steriler 0,85 %iger Kochsalzlösung gegossen. Als weitere Kontrolle würde in einzelnen Fällen dann noch Röhrchen VII mit einem Auszuge des in Frage kommenden Stoffes beschickt werden.

Zu den einzelnen mit je 1 ccm Lösung gefüllten Röhrchen, wird mit Ausnahme von Röhrchen II je 0,1 ccm von dem im Vorversuch geprüften Antiserum mit einer graduierten Pipette (1 ccm mit 100 Teilstrichen) zugesetzt, während in Röhrchen II 0,1 ccm normales vollständig klares Kaninchenserum gegeben wird.

Fig. 7. Kapillarpipette.

Zeigt das Antiserum in den Aufbewahrungsröhrchen einen Bodensatz (s. unten), so läßt sich dasselbe mit dieser Pipette nicht entnehmen, ohne den Bodensatz aufzurühren. Man bedient sich in solchen Fällen zweckmäßig einer Kapillarpipette (Fig. 7), mit der es leicht gelingt, das Serum, ohne den Bodensatz aufzurühren, bis auf den letzten Tropfen aufzusaugen. Diese Pipette stellt man sich durch Ausziehen eines Glasrohres von 5 mm Durchmesser über einer Gebläselampe leicht her. Hat man die Pipette vor dem Aufziehen des Serums genau kalibriert, so kann man 0,1 ccm desselben direkt in die einzelnen mit Untersuchungs- und Kontrollflüssigkeiten beschickten Röhrchen abtropfen lassen. Das Kalibrieren der Pipetten geschieht in der Weise, daß man vorher mit einer dünnen genau graduierten Pipette 0,1 ccm Kochsalzlösung in ein Uhrschälchen oder in einen Färbeklotz bringt, die Flüssigkeit dann mit der Kapillarpipette vollständig aufsaugt, langsam abtropfen läßt und die Tropfen zählt. Die Anzahl der Tropfen (gewöhnlich 6) entspricht dann etwa 0,1 ccm.

Beim Zusetzen des Serums zu den einzelnen Flüssigkeiten hat man darauf zu achten, daß es möglichst an der Wand des Reagenzröhrchens herunterfließt und nicht direkt auf die Flüssigkeit getropft wird. Das zugesetzte Serum sinkt in der Regel als spezifisch schwerer zu Boden. Die Röhrchen dürfen nach dem Serumzusatz nicht geschüttelt werden, weil sonst die beginnende Reaktion nicht so deutlich in die Erscheinung tritt.

Die Reaktion soll bei Zimmertemperatur nicht im Brutschrank vor sich gehen. Zu einer Untersuchung soll stets nur der Inhalt eines Röhrchens, nicht dagegen eine Mischung des Inhaltes mehrerer Röhrchen verwandt werden Man hat nämlich wiederholt beobachtet, daß Menschenantisera, die von verschiedenen Kaninchen stammten, zusammengemischt Präzipitate geben (Obermeyer und Pick, W. A. Schmidt u. a.).

d) Beurteilung des Befundes.

Wenn die Reaktion als positiv gelten soll, so muß sofort oder spätestens nach 2 Minuten die Reaktion als hauchartige Trübung am Boden der Röhrchen I und III sichtbar sein. — Ist die Schichtung sehr vorsichtig erfolgt, so zeigt sich die Trübung in Form eines deutlich sichtbaren Ringes an der Berührungsschicht zwischen Untersuchungsflüssigkeit und Serum. — Innerhalb der ersten 5 Minuten muß sich die hauchartige Trübung in eine mehr wolkige verwandeln, die sich dann nach weiteren 10 Minuten gewöhnlich als flockiger Bodensatz absetzt. Während die angegebene Niederschlagbildung in Röhrchen I und III erfolgt, müssen die Kontrollröhrchen II, IV, V, VI resp. VII im Verlauf der

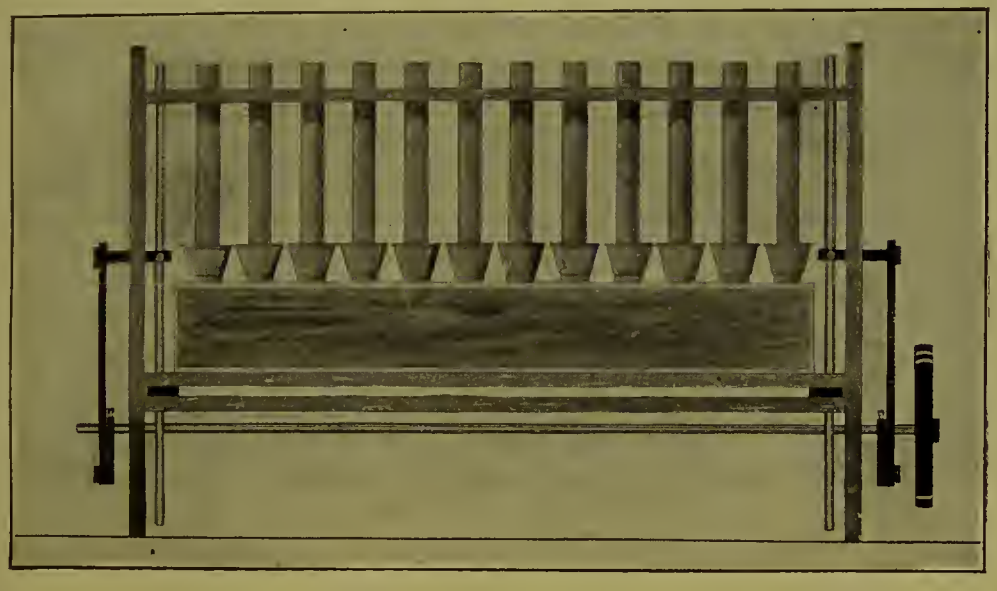


Fig. 8.

gesamten Untersuchungszeit vollkommen unverändert klar bleiben. Später etwa entstehende Trübungen, die nach 20 Minuten auftreten, dürfen als positive Reaktion nicht aufgefaßt werden. Um die Reaktion in der geschilderten Weise beobachten zu können, dürfen die Röhrchen, wie oben erwähnt, nicht geschüttelt werden. Zur besseren Beobachtung der Trübung werden die Röhrchen bei durchfallendem Tages- oder künstlichem Licht betrachtet, indem zwischen Lichtquelle und Reagenzglas eine schwarze Tafel oder dergl. gehalten wird.

Neuerdings ist von Dürck ein Apparat angegeben, der eine bessere Beobachtung schwacher Trübungen ermöglicht. (Siehe Fig. 8 und 9.)

„Die Vorrichtung beruht im wesentlichen auf der vollständigen Auslöschung aller Reflexe an den Wandungen der runden Uhlenhuthschen Röhrchen durch Eintauchen derselben in Zedernholzöl. Da das Zedernöl bekanntlich den gleichen Brechungsindex hat wie Glas, so ist ein mit Zedernöl gefülltes Röhrchen, welches man in ein weiteres Zedernöl enthaltendes Glasgefäß taucht, überhaupt nicht mehr sichtbar. Befindet sich in dem Röhrchen irgend eine andere Flüssigkeit, so werden allerkleinste Trübungen oder in dieser suspendierte Teilchen mit großer Deutlichkeit sichtbar, weil der Lichtreflex an den äußeren Wandungen des Röhrchens ausgelöscht ist. Auf dem gleichen Prinzip beruht bekanntlich unsere

homogene Ölimmersion, nämlich auf einer Vermeidung des Lichtverlustes an der Trennungsfläche verschieden lichtbrechender Medien. Bei dem in Rede stehenden Apparat wird das Zedernöl in ein langes Glaswännchen eingefüllt, welches aus gut verkitteten Spiegelglastafeln besteht. Die hintere, die beiden seitlichen und die untere Glastafel sind außen geschwärzt zur Vermeidung störender Reflexe, nur die vordere ist durchsichtig. Dieses Wännchen paßt genau in ein Reagenzglasgestell für 12 Uhlenhuthsche hängende Reagenzröhrchen. Das Gestell ist derartig eingerichtet, daß der Boden, auf welchem das Wännchen zu stehen kommt,

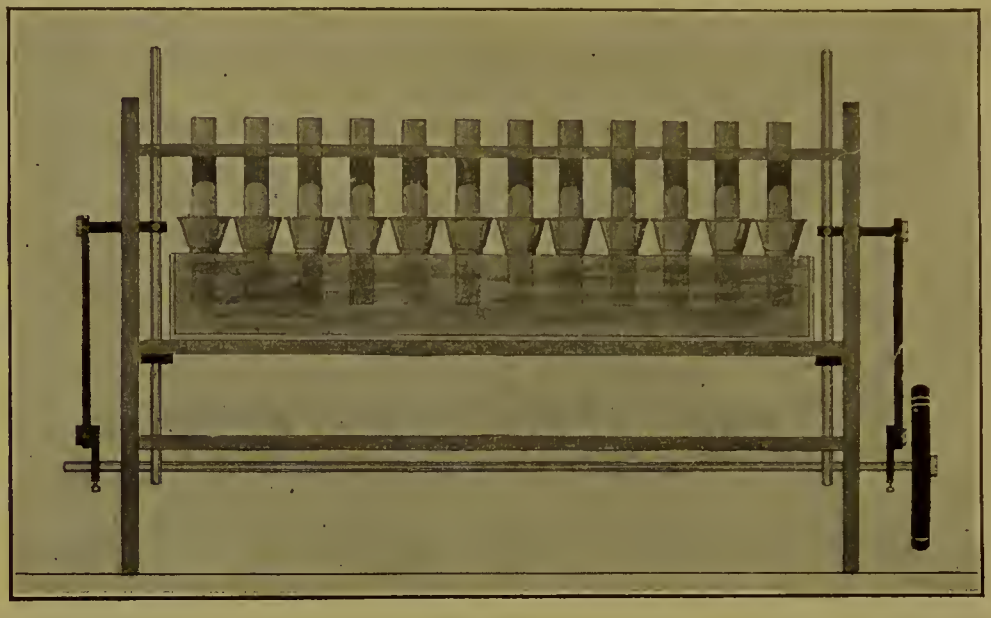


Fig. 9.

durch eine einfache Triebvorrichtung in die Höhe gehoben und in jeder Höhe fixiert werden kann. Ist der Doppelboden, auf welchem das Wännchen zu stehen kommt, nach abwärts gestellt, so hängen die Röhrchen frei in der Luft und ihr Inhalt kann im durchfallenden Licht beurteilt werden. Stellt man den Doppelboden und dadurch das Wännchen mit Hilfe des Triebes nach oben, so tauchen alle 12 Röhrchen auf einmal in das Zedernöl ein, jedoch so, daß sie auch bei allerhöchster Stellung den Boden des Wännchens nicht berühren. Um nun auch noch das von oben her in das Zedernholzöl einfallende Licht möglichst auszuschalten, ist das Wännchen oben mit einem Metalldeckel bedeckt, welcher genau den herabhängenden Röhrchen entsprechende und entsprechend weite Öffnungen trägt. Diese sind zum weiteren Lichtschutze nach oben mit einer Art von Trichter versehen, so daß bei dem Emporsteigen des Wännchens jedes Röhrchen genau durch den Trichter und durch die Öffnung in dem geschwärzten Metalldeckel in das Zedernöl hineingeleitet wird.

Die Anwendung des Apparates geschieht in der Weise, daß man nach Füllung des Wännchens mit Zedernöl, Beschickung der Röhrchen und Ausführung der Reaktion das Wännchen hoch stellt und dann das volle Licht von einem gut beleuchteten Fenster durch die Spiegelglasplatte hindurchfallen läßt. Man stellt sich also mit dem Rücken gegen die Lichtquelle und beobachtet im auffallenden Lichte.

Der kleine Apparat wird vielleicht auch für die Ausführung von spezifischen Agglutinationsproben sowie für die Beobachtung feiner

chemischer auf der Bildung von Niederschlägen beruhender Reaktionen gute Dienste leisten können."

Der Apparat wird von der Firma Winkel in Göttingen angefertigt.

Um alle Fehlerquellen bei dem biologischen Verfahren sicher auszuschließen, sind, wie aus der obigen Anweisung hervorgeht, unbedingt 5 resp. 6 Kontrollen notwendig.

Die Kontrolle, Röhrchen II — Zusatz von normalem Kaninchenserum zu der Untersuchungslösung — die absolut klar bleiben muß, hat den Zweck, nachzuweisen, daß die in Röhrchen I etwa beginnende Trübung nicht auf allgemein physikalische Einwirkung infolge von Kaninchenserumzusatz zu beziehen ist.

Die Kontrolle, Röhrchen III — Zusatz von spezifischem Serum zu der homologen Blutlösung — dient nur zum Vergleich mit Röhrchen I und gibt nochmals über die Wirksamkeit des Antiserums Aufschluß.

Die Kontrollen, Röhrchen IV und V, in denen kein Niederschlag entstehen darf, beweisen, daß die in dem Untersuchungsröhrchen I sich etwa bildende Präzipitation durch eine spezifische Wirkung des zugesetzten Serums hervorgerufen wird.

Eine der wichtigsten Kontrollen ist die Kontrolle mit der zur Verdünnung der einzelnen Lösungen gebrauchten physiologischen Kochsalzlösung, Röhrchen VI; ihr Klarbleiben nach dem Zusatz des in Frage kommenden Antiserums beweist, daß einmal das zur Verwendung gekommene spezifische Serum vollkommen klar ist und nicht opalesziert und daß außerdem die 0,85 %ige Kochsalzlösung nicht schon an und für sich beim Zusatz des spezifischen Serums Trübungen bildet, wie das z. B. beim Leitungswasser der Fall sein würde.

Die Kontrolle, Röhrchen VII liefert uns endlich den Beweis, daß der Stoff, in dem das Blut eingesogen ist, nicht bereits für sich allein bei Zusatz des Antiserums eine Trübung hervorruft.

Um die Reaktion in der angegebenen Weise ausführen zu können, ist es nötig, mindestens 2 ccm der zu untersuchenden Lösung herzustellen, nämlich je 1 ccm für Röhrchen I und II. Das Verhältnis zwischen den Flüssigkeiten und dem zuzusetzenden Antiserum, welches etwa 1 : 10 beträgt, hat sich nicht als unbedingt notwendig, wohl aber als praktisch erwiesen. 1 ccm von den zu untersuchenden Lösungen zu verwenden ist insofern vorteilhaft, als man schon bei dieser Menge die allmählich vom Boden des Röhrchens aufsteigende Trübung gut beobachten kann.

Stehen ganz kleine Mengen von Untersuchungsmaterial zur Verfügung, so bedient man sich mit großem Vorteil der von G. Hauser angegebenen **Kapillarmethode.**

Für diese Methode genügen die kleinsten Mengen der zu prüfenden Blutlösung und zwar bereits die Bruchteile eines Tropfens. Die Methode wird nach Hauser in der Weise ausgeführt, daß man zuerst eine entsprechende Anzahl von Kapillarröhrchen sorgfältig reinigt, indem man sie mit destilliertem Wasser füllt und über einer kleinen Flamme auskocht. Fast alle Kapillarröhrchen zeigen an der Innenwand zahlreiche weißliche kristallinische Ausscheidungen, welche auf diese Weise, namentlich durch die beim Kochen auftretenden Explosionen, am besten beseitigt werden. Nur völlig gereinigte, auch bei

Lupenbetrachtung klare Kapillarröhrchen sind für den Versuch zu verwenden.

Die Herstellung der Lösung erfolgt stets auf einem gereinigten Objektträger, welcher auf ein weißes Papier gelegt wird. Man bringt zunächst auf denselben mittels einer Kapillarpipette 6—20 cmm physiol. Kochsalzlösung; in dieses kleine Tröpfchen bringt man dann mittels einer Präpariernadel das für die Herstellung der Lösung bestimmte Material. Da man eine so geringe Flüssigkeitsmenge nicht filtrieren kann, so ist es zweckmäßig nicht etwa von dem Blutflecken feine Stäubchen abzuschaben, sondern vielmehr, wenn möglich, ein kleines Partikelchen event. unter der Lupe samt der Unterlage (Holz, Papier, Leinwandfädchen usw.) herauszuschneiden und dieses direkt in das Tröpfchen Kochsalzlösung zu legen, bzw. mit einer Präpariernadel in ihr etwas herumzuführen. Man erhält auf diese Weise eine vollkommen klare Lösung, welche auf der Papierunterlage völlig farblos erscheinen muß. Ist sie gelblich gefärbt, so wird sie durch weiteren Zusatz von einigen Kubikmillimetern Kochsalzlösung bis zur Farblosigkeit verdünnt. Nur wenn die Beschaffenheit des Gegenstandes, an welchem das Blut angetrocknet ist, es nicht gestattet, kleinste Partikelchen von ihm abzutrennen, wie das z. B. bei Metall oder Glas der Fall ist, werden von dem zu untersuchenden Blutflecken kleinste Partikelchen abgesprengt oder Stäubchen abgeschabt, und diese dann am besten ebenfalls mittels Präpariernadel in das Tröpfchen Kochsalzlösung gebracht und extrahiert. Ist zu befürchten, daß bei der Untersuchung eines an einem Gegenstand befindlichen einzigen Blutfleckens die abgeschabten Blutstäubchen bei dem Transport auf den Objektträger leicht verloren gehen, so kann man bei einem nicht porösen Körper, z. B. einer Messerklinge, die Herstellung der Lösung auf dem Gegenstand selbst vornehmen, indem man den Blutflecken direkt mit der entsprechenden Menge Kochsalzlösung bedeckt und so extrahiert.

Die genau bezeichneten Kapillarröhrchen werden durch Kapillarattraktion mit den zu untersuchenden Lösungen bis zu einer beliebigen Höhe von etwa 2—5 cm gefüllt; an der Flüssigkeitsgrenze werden die Röhrchen mit einer Marke (Fettstift) versehen. Die so gefüllten Kapillaren werden, nachdem das untere Ende sorgfältig mit Seidenpapier abgetrocknet worden ist, einstweilen horizontal so auf ein Glasbänkchen gelegt, daß das gefüllte Ende frei über dessen Rand herausragt. Hierauf bringt man mit einem sterilisierten Kapillarröhrchen ein kleines Tröpfchen des spezifischen Serums auf einen gereinigten Objektträger und saugt (durch Kapillarattraktion) davon, indem man das Serum durch Neigen des Objektträgers an den Rand laufen läßt, derartig eine kleine Menge in eines der zu beschickenden Röhrchen an, daß das Serum ohne Dazwischentreten einer Luftblase und ohne sich mit der in dem Röhrchen befindlichen Lösung zu vermengen, mit dieser in unmittelbare Berührung kommt. Man muß deshalb auch vermeiden, daß von der Lösung etwas aus dem Röhrchen ausfließt und sich mit dem Serum auf dem Objektträger vermengt. Das gelingt sehr leicht, wenn man bei starker Neigung des Objektträgers das Kapillarröhrchen fast bis in die Horizontale bringt; geht man unter diese herunter, so fließt das spezifisch schwerere Serum, sich mit der Lösung vermengend, zu weit in das Kapillarröhrchen hinein. Wurde richtig verfahren, so bleibt das Serum am Grunde des Röhrchens und nimmt hier genau so viel Raum ein, als durch das Ansaugen des Serums die Flüssigkeit in dem Röhrchen über die Marke gestiegen ist. Nach Ansaugen des Serums wird das untere Ende des

Kapillarröhrchens wieder sorgfältig von dem außen etwa noch anhaftenden Serum gereinigt, das Röhrchen dann sogleich wieder steil gehalten, unten durch Anpressen eines Wachskügelchens verschlossen und in ein kleines mit einer Watteschicht ausgelegtes Bechergläschen gestellt. In dieser Weise werden sämtliche mit dem Serum zu versetzenden Röhrchen behandelt, wobei für jedes Röhrchen stets wieder ein frisches Tröpfchen Serum auf einen neuen Objektträger gebracht wird. An der Berührungsstelle von spezifischem Serum und Blutlösung bildet sich bei positivem Ausfall der Reaktion oft schon nach mehreren Sekunden bei Zimmertemperatur in der Blutlösung an der Grenze zwischen der Lösung und Serum eine ringförmige, grauweiße, weithin sichtbare Trübung, die allmählich immer intensiver wird und sich dabei mehrere Millimeter nach oben in die Blutlösung herein fortsetzt und schließlich zu einem flockigen Niederschlag führt.

„Verfährt man nach den hier aufgestellten Regeln, so dürfte in der forensischen Praxis kaum ein Fall vorkommen können, in welchem die Untersuchung einer Blutspur wegen ihrer Kleinheit auf unüberwindliche Hindernisse stieße, vorausgesetzt, daß die Löslichkeit des Blutes durch das Alter oder sonstige Einwirkungen nicht zu sehr gelitten hat" (HAUSER). Selbst $^1/_{2000}$ cmm Blut (= $^1/_{2000000}$ ccm) konnte bei Anwendung der Kapillarmethode noch ganz sicher nachgewiesen werden.

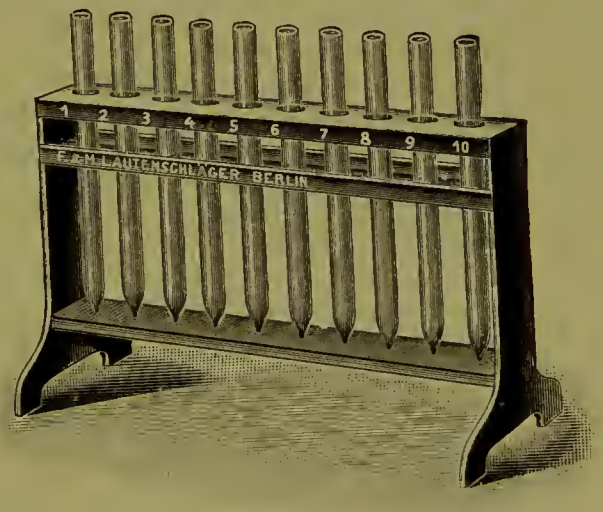


Fig. 10. Reagenzglasgestell für die Kapillarmethode nach CARNWATH.

Neuerdings ist von CARNWATH unter UHLENHUTHS Leitung diese Methode etwas modifiziert worden. Das Verfahren ist folgendes:

Die winzigen Blutspuren werden mit etwa 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung in der oben angegebenen Weise extrahiert. Ob die für die biologische Reaktion genügende Menge Eiweiß in Lösung übergegangen ist, kann man daran erkennen, daß die durch das Hineinblasen von Luft in die Untersuchungsflüssigkeit entstehenden Blasen etwa $^1/_2$ Minute stehen bleiben. Die hieran jetzt anzuschließende Salpetersäurekochprobe wird so ausgeführt, daß man in einem sterilen Kapillarröhrchen etwas Untersuchungsflüssigkeit bis zur Höhe von etwa 2 cm aufzieht, dann das Röhrchen, nachdem die Flüssigkeit einige Zentimeter höher aufgezogen, an dem unteren Ende zuschmilzt. Durch Hineintauchen der Kapillare in kochendes Wasser wird nunmehr die Untersuchungsflüssigkeit ebenfalls zum Sieden gebracht. Nunmehr wird das zugeschmolzene Ende abgebrochen und die erhitzte Eiweißlösung auf einem reinen Objektträger mit etwa dem vierten Teil 25 %iger Salpetersäure zusammengebracht und gut gemischt. Tritt hierbei eine leicht opaleszierende Trübung auf, so ist die für die Reaktion vorschriftsmäßige Verdünnung vorhanden.

Zur Ausführung der Reaktion benutzt man ein kleines Metallgestell, welches für 10 Röhrchen von 2 mm Durchmesser und 6 cm Länge Platz hat (Fig. 10). Die Röhrchen stellt man sich jedesmal vor Ansetzen der Reaktion aus einem gereinigten Glasrohr selbst her. In die einzelnen Röhrchen werden bis zu einer Höhe von etwa 3 mm zuerst die in Frage kommenden Sera eingefüllt. Man bedient sich hierzu zweckmäßig der oben beschriebenen Kapillarpipette (s. pag. 48 Fig. 7). Dann überschichtet man die einzelnen Sera vorsichtig mit der Untersuchungsflüssigkeit und den einzelnen Kontrollösungen ebenfalls bis zu einer Höhe von 3 mm. Bei positivem Ausfall der Reaktion tritt dann genau wie bei der Hauserschen Methode an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten ein deutlicher Ring auf, der sich nach oben immer mehr verbreitert, um sich später als flockiger Niederschlag in der Kuppe des Röhrchens anzusammeln. Bei dieser Methode kann man bequem mit 0,1 ccm Untersuchungsflüssigkeit auskommen.

Die Kapillarmethode steht dem sonst üblichen Verfahren in keiner Weise nach und gestattet nach Hauser auch die Benutzung konzentrierterer Blutlösungen, sofern man nur, wenn solche in Verbindung mit einem starken Antiserum zur Verwendung kommen, sich streng an die von Uhlenhuth gegebene Vorschrift hält, nämlich nur dann da Auftreten einer Trübung, in diesem Falle die Bildung des charakteristischen grauweißen Ringes, als positive Reaktion zu betrachten, wenn dessen Entwicklung sofort oder spätestens 1—2 Minuten nach der Überschichtung des Antiserums einsetzt.

Uhlenhuth, Weidanz und Angeloff haben sich dieser Methode mit großem Vorteil bei dem biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten bedient. Die Untersuchungen wurden in folgender Weise ausgeführt:

Von den zu untersuchenden Insekten und Zecken wurde, wenn möglich, der Darmtraktus mit Hilfe von zwei feinen Nadeln frei präpariert. War der auf Blut zu untersuchende Inhalt flüssig, so wurde er einfach in ein Uhrschälchen ausgedrückt, war er dagegen fest, wie das meistens der Fall war, wenn die Insekten bereits längere Zeit tot waren, so empfahl es sich, denselben erst durch Zerzupfen oder durch Zerreiben in einem kleinen Mörser zu zerkleinern. Kleinere Tiere wie Wanzen, Läuse, Flöhe usw. wurden einfach auf Fließpapier zerdrückt. Ein Teil des auf Fließpapier angetrockneten Fleckes resp. des ausgedrückten flüssigen oder zerkleinerten Magen- und Darminhaltes wurde dann mit Hilfe der üblichen chemisch-physikalischen Methoden auf Blut untersucht, der Rest wurde für die biologische Reaktion verwandt. Zu diesem Zweck wurde das Untersuchungsmaterial mit etwa 0,2 ccm 0,85 %iger steriler Kochsalzlösung ausgelaugt. Minimale Mengen der so gewonnenen und nach Vorschrift verdünnten Blutlösung wurden dann mit einer winzigen Menge des in Frage kommenden Antiserum überschichtet. An der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten trat dann bei positivem Ausfall der Reaktion eine deutliche Ringbildung (Präzipitat) auf. Die in der angeführten Weise ausgeführten Untersuchungen erstreckten sich auf Blutegel, Wanzen, Läuse, Flöhe, Zecken und Mücken.

In Blutegeln gelang es uns leicht noch nach $2^1/_2$ Monaten Menschenblut nachzuweisen; auch waren noch intakte Blutkörperchen vorhanden.

In Wanzen konnte der Nachweis von Menschenblut noch nach 14 Tagen geführt werden.

Ähnlich waren die Ergebnisse bei Läusen, Flöhen, Zecken.

Bei einer Anzahl von Anophelesmücken, die in verschiedenen Tierställen (im Frühjahr) gefangen waren, konnten wir feststellen, daß sie zum Teil Schweineblut, zum Teil Rinderblut, aber kein Menschenblut enthielten. Die Mücken waren im Kuh- resp. Schweinestall gefangen.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß es mit Hilfe der biologischen Methode in einfacher Weise gelingt, die für die einzelnen Zwischenträger in Frage kommenden Blutlieferanten zu ermitteln, und es dürfte nach den erzielten Ergebnissen angezeigt sein, diese Methode für epidemiologische Forschungen mit heranzuziehen.

Trotz der außerordentlichen Feinheit der angeführten biologischen Methoden kann es doch einmal vorkommen, daß es bei einem Blutfleck, der als solcher diagnostiziert ist, nicht gelingt, die für die biologische Reaktion notwendige Eiweißmenge auszulaugen. Es wird das besonders dann der Fall sein, wenn die löslichen Eiweißkörper des Untersuchungsmaterials durch hohe Temperaturen in unlösliche Modifikationen übergeführt oder durch Fäulnis oder stark wirkende Substanzen geschädigt resp. zerstört sind. Sind in einem solchen Material aber nur noch die geringsten Mengen löslicher unveränderter Eiweißkörper vorhanden, so ist die biologische Methode noch nicht aussichtslos.

Einfluß der Fäulnis.

Um zu entscheiden, ob auch lange Zeit gefaultes Blut, wie es für die forensische Begutachtung in Frage kommen könnte, noch die Präzipitinreaktion gibt, wurden von Uhlenhuth zahlreiche Untersuchungen angestellt.

Es seien hier einige Versuchsprotokolle kurz wiedergegeben.

Am 19. März 1904 wurden folgende Blutproben, die im Laboratorium im offenen Glase der Fäulnis ausgesetzt waren, untersucht:

1. Blut von einer am 22. Januar 1904 sezierten Leiche (Phthisis pulmonum).
2. Blut von einer am 22. Januar sezierten Leiche (Urämie).
3. Blut von einem neugeborenen toten Kinde vom 20. Januar 1904.
4. Blut aus dem Leichenkeller der Anatomie (Greifswald), welches bei der Entnahme am 1. März stark in Fäulnis übergegangen war.
5. Blut von einer an Miliartuberkulose gestorbenen Frau vom 20. Januar 1904.
6. Blutproben von gesunden Menschen, welche a) seit dem 20. Februar, b) seit dem 4. März, c) seit dem 10. März der Fäulnis ausgesetzt gewesen sind (1904).

Als Kontrolle dienten ebenso lange Zeit gefaulte Blutproben vom Hammel, Schwein, Pferd, Esel, Rind, Katze, Hund, Gans, Huhn, Hasen, Kaninchen, Hirsch.

Alle diese Proben sahen trübe mißfarben rötlich bis schwarzbraun aus und verbreiteten einen penetranten Geruch z. T. nach H_2S. Beim Darüberhalten eines in HCl getauchten Glasstabes stiegen reichliche Salmiaknebel aus der Faulflüssigkeit auf. Die Reaktion war schwach alkalisch. Diese faulen Blutflüssigkeiten wurden nun mit physiologischer Kochsalzlösung stark verdünnt und durch ein Berkefeldsches Filter filtriert. Mit den auf diese Weise gewonnenen klaren Blutlösungen wurde in der vorgeschriebenen Weise die biologische Reaktion auf Menschen-

blut angestellt. In allen Menschenblut enthaltenden Röhrchen trat die Reaktion prompt auf, alle übrigen blieben klar.

Dieser Versuch zeigte, daß trotz einer intensiven bis 3 Monate dauernden stinkenden Fäulnis die Reaktionsfähigkeit des Menschenblutes nicht aufgehoben war.

Diese Tatsache beansprucht ein allgemeines biologisches Interesse. Es ist bekannt, daß die Fäulnis ebenso wie die Gärung mit der Zeit zum Stillstand kommen, bevor sämtliche Fäulnis- bzw. gärungsfähige Substanzen vollständig umgesetzt sind. Sind aber sämtliche Eiweißstoffe durch die Fäulnis zerstört, so kann man natürlich keinen positiven Ausfall mehr erwarten. Uhlenhuth, Weidanz und Stryzowsky haben bei 10 Jahre alten im zugeschmolzenen Glasrohr aufbewahrten faulem Blute noch eine schwache positive Reaktion erzielt. Wann das Blut seine Reaktionsfähigkeit verloren hat, darüber lassen sich natürlich bestimmte Zeitangaben nicht machen.

Uhlenhuth und Beumer haben in dieser Beziehung noch weitere Versuche angestellt, und zwar benutzten sie Blutproben, die im Reagenzglas (mit Watte verschlossen) mehrere Jahre im Laboratorium gestanden hatten. Nach 2 Jahre dauernder Fäulnis konnten sie noch positive Resultate erzielen, in anderen Fällen gelang ihnen das nicht mehr.

Faule Blutproben untersucht 1903 von Uhlenhuth und Beumer.

Nr.	Bezeichnung	Guajakprobe	O. Hämoglobin	Hämochromogen	Hämatoporphyrin	Teichmannsche Kristalle	Biologische Reaktion
1.	Rinderblut, flüssig, braun, faul. Frühjahr 1901.	+		+	+	—	stark +
2	Desgl. Februar 1901.	—		—	—	—	—
3.	Desgl. 17. IV. 1901.	+		+	+	—	—
4.	Desgl. 9. I. 1901.	+		+	+	—	+
5.	Menschenblut, flüssig, braun, faul, stinkend. Januar 1901.	+		+	+	—	+
6.	Desgl. 23. I. 1901.	+		—	—	—	+
7.	Desgl. 20. III. 1901 (Anatomie).	+		+	+	—	+
8.	Desgl. 16. IV. 1901 (rötlich gefärbt).	+	+		+	+	+
9.	Menstrualurin, 14. IV. 1901.	—		—	—	—	+
10.	Menschenblut, 2. II. 1901.	+		—	+		schwach +
11.	Desgl. 12. V. 1901.	+		+	+	—	+
12.	Desgl. 4. IV. 1901.	+		—	—		+
13.	Hammelblut, faul, braun, 25. II. 1901.	—		—	—	—	—

Aus dieser Tabelle soll hervorgehen, in welcher Weise die Untersuchung des faulen Blutes vorgenommen ist, sodann beweist sie, daß selbst bei solchem alten, faulem Blute die biologische Methode noch Aufschluß geben kann, sie beweist ferner, daß selbst beim Versagen aller übrigen Untersuchungsmethoden auf biologischem Wege unter Umständen noch die Herkunft der Eiweißstoffe erbracht werden kann. cf. Nr. 9, Menstrualurin. Andererseits zeigt die Tabelle, daß die biologische Methode versagen kann bei starker andauernder Fäulnis, bei welcher die anderen Methoden noch den Nachweis des Blutes liefern konnten.

Graham-Smith und Sanger fanden bei Blutproben, die unter natürlichen Verhältnissen der Fäulnis fünf Monate bis ein Jahr ausgesetzt waren, die Reaktionsfähigkeit je nach dem Grade der Fäulnis mehr oder weniger abgeschwächt; auch in Fäulnis übergegangenes Serum zeigte nach Filtration bei Vorbehandlung von Kaninchen noch gute Antikörperbildung.

Ziemke, Biondi u. a. ist es ebenfalls gelungen, faulendes Blut mit Hilfe der biologischen Reaktion zu identifizieren. — Es sei in diesem Zusammenhange auch die interessante Tatsache erwähnt, daß die bei der biologischen Reaktion entstehenden Niederschläge (Präzipitate) gegenüber der Fäulnis eine außerordentliche Resistenz zeigen. (E. Friedberger.)

Einfluß der Hitze.

Es ist von anderer Seite hervorgehoben, zuerst von Ferrai, der ausgedehnte Untersuchungen über die Einwirkung hoher Hitzegrade mit angetrocknetem Blut angestellt hat, daß Temperaturen

von + 130° nach einer Stunde,
„ + 140° „ 20 Minuten,
„ + 150° „ 10 „
„ + 160° „ 5—10 „

die reaktionsfähigen Substanzen im Blut zerstören; diese Untersuchungen sind vielfach nachgeprüft und bestätigt worden, so von Nuttall, Modica, Biondi, Uhlenhuth und Beumer.

Aus Versuchen von Loeffler geht hervor, daß getrocknetes Blut nach $^1/_2$stündigem Erhitzen auf 150° C noch fähig ist, Präzipitine zu bilden, welche nicht nur das auf 150° erhitzte, sondern auch unerhitztes Eiweiß präzipitieren. Ob das bei 150° erhitzte Eiweiß aber noch mit einem durch Vorbehandlung mit unerhitztem Eiweiß erzeugten Präzipitinserum reagiert, hat Loefflr nicht angegeben. Nach dem Befunde Ferrais wäre dies wohl nicht zu erwarten, denn nach ihm wird die Reaktionsfähigkeit schon nach 10 Minuten langem Erhitzen auf 150° zerstört. Neuerdings hat W. A. Schmidt sorgfältige Untersuchungen über diese Frage angestellt. Er fand, daß trockenes Serum ein 2stündiges Erhitzen auf 110° C verträgt, ohne daß die präzipitable Substanz darunter leidet, auch bei 1stündigem Erhitzen bei 130° C bleibt das Serum noch in genügendem Maße reaktionsfähig, um die Differenzierung desselben zu ermöglichen. Jedoch wurden die Lösungen des 130°igen Serums langsamer gefällt als die Lösungen von unerhitztem Serum. Das $^1/_2$ Stunde auf 150° erhitzte Serum zeigt sich bereits stark verändert, so daß es nicht mehr präzipitiert wurde, was im Hinblick auf die Befunde von Loeffler auffallend erscheint.

Im flüssigen Zustand wird die präzipitable Substanz des Serums bereits durch erheblich geringere Temperaturgrade geschädigt. Von den zahlreichen, etwas divergierenden Befunden (Tchistowitch, Eisenberg, Müller, Meyers, Bordet, Schütze, Leclainche und Vallée usw.) seien hervorgehoben diejenigen von Graham-Smith, der fand, daß durch 3 Minuten langes Erhitzen auf 64° die Reaktionsfähigkeit des Serums zerstört wird. W. A. Schmidt stellte jedoch fest, daß ein 30—60 Min. langes Erhitzen auf 70° das Serum nur verhältnismäßig wenig beeinflußt; selbst bei 1stündigem Erhitzen auf 90° wurde die Reaktionsfähigkeit nicht völlig vernichtet (s. unten Nachweis von gekochtem Fleisch).

Einfluß des Alters und der Austrocknung.

Uhlenhuth untersuchte 6—12—60 Jahre alte, Biondi 10—15, Ziemke 25 Jahre alte Blutflecken mit positivem Erfolg.

Graham-Smith und Sanger haben an forensischen Objekten aus dem Scotland Yard-Museum eingehende Untersuchungen angestellt. Die Blutflecken waren an Messern, Stoffen und Leder angetrocknet.

Es ergab sich, daß 30 Jahre alte Flecken fast ausnahmslos identifiziert werden konnten; auch auf Zeug, Papier, an Haaren konnten mit wenigen Ausnahmen 3—28 Jahre alte Flecken ihrer Herkunft nach noch erkannt werden.

Auf Filtrierpapier angetrocknete 2 Tage bis 2 Jahre alte Menschenblutflecken zeigten eine sehr starke Reaktion, auch flüssig aufbewahrte Sera, die 6 Monate bis 4 Jahre lang mit Trikresol konserviert waren, gaben noch eine deutliche Reaktion.

Bezüglich des Alters lassen sich ganz bestimmte Angaben nicht machen; in der Praxis dürften ja meist nicht sehr alte Blutflecken zur Untersuchung gelangen. Uhlenhuth und W. A. Schmidt haben, wie oben ausgeführt, bei 300jährigen und mehrtausendjährigen Mumien eine Präzipitinreaktion nicht mehr erzielt.

Die reaktionsfähigen Eiweißkörper sind durch die Zeit, vielleicht auch durch die Balsamierung zerstört. Trotzdem hat W. A. Schmidt auf chemischem Wege albumoseartiges Eiweiß und wahrscheinlich noch Spuren von nativem Eiweiß nachweisen können (siehe unten). Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, daß durch Antrocknen die präzipitable Substanz wenig geschädigt wird. und daß die Eiweißstoffe in trockenem Zustande sich auf viele Jahre unverändert erhalten können, da sie so der Einwirkung der Fäulnis entzogen sind.

Aus dieser Tatsache ergibt sich die zweckmäßige Forderung, Blut, das am Tatorte gefunden und dem Sachverständigen zur Untersuchung vorgelegt werden soll, auf einer einwandfreien Unterlage, wie z. B. Fließpapier, einsaugen und eintrocknen zu lassen.

Chemische Einflüsse.

Das zu begutachtende Blut kann unter den verschiedensten Verhältnissen in der Praxis an allen möglichen Gegenständen sich vorfinden und dadurch auch in seiner Reaktionsfähigkeit beinflußt werden. Uhlenhuth hat schon in einer seiner ersten Arbeiten diese forensisch sehr wichtigen Fragen berücksichtigt.

Er konnte aus verschiedenen, mit schwach alkalischer Seifenlösung hergestellten und mit verschiedenen Desinfektionsmitteln (Karbol, Sublimat) versetzten Blutwaschwässern dasjenige, welches Menschenblut enthielt, ohne weiteres herausfinden, ebenso gelang der Nachweis von Menschenblut in Menstrualurin, während alle anderen mit Rinder-, Schweine-, Hammel-, Hühner-, Pferde- und Katzenblut versetzten Urinproben die Reaktion nicht gaben.

Auch an längere Zeit gefroren gewesenen Blutspuren konnte ihre Herkunft noch leicht diagnostiziert werden. Blutlösungen von Kohlenoxydhämoglobin gaben deutliche Reaktionen (Uhlenhuth, Ziemke).

Auch geben auf Holz, Glas, Zeug, Eisen angetrocknete Blutflecken in der Regel ungeschwächte Reaktionen. Rostbildung stört oft die reaktionsfähigen Substanzen. An Papier, Stein, Kiesel, Schiefer, Kohle, Kork,

Band, Stroh, Gummi, Linoleum, Leinwand, Shirting, Gartenerde, rostigen Messern, Streichhölzern, Baumästen, Glas, Silber- und Kupfermünzen jahrelang angetrocknetes Blut reagierte prompt (Graham-Smith, Uhlenhuth, Ziemke). Ziemke konnte an dem 2 Jahre vorher bespritzten Kalk von der Wand eines Kellers noch Blut biologisch nachweisen.

Kalk schädigt sonst im allgemeinen die präzipitable Substanz; Blutlösungen mit kleinen Mengen von Kalk vermischt geben bei Zusatz von Antiserum (und Serum) Trübungen, die aber durch Zuführung von CO_2 und nachträgliche Filtration beseitigt werden können (Graham-Smith).

Dürck und Uhlenhuth fanden, daß ein Extrakt einer gewöhnlichen Baumrinde (Weide) bei Zusatz von Antiserum und auch normalem Serum wohl infolge des Gehaltes an Gerbsäure einen Niederschlag gab. Auch bei einer Zeugprobe wurde das einmal beobachtet (Uhlenhuth).

Bemerkenswert ist ferner, daß gewisse Lederextrakte, die wohl infolge ihres Gehalts an Gerbsäure stark sauer reagierten, auch bei Zusatz von normalem Serum Präzipitatbildung zeigten. Durch Neutralisation konnte in den meisten Fällen dieser Fehler beseitigt werden, bei einer Sorte (dickes gelbes Leder) gelang das nicht; es wird angenommen, daß durch die Art der Präparation dieses Leders die Vernichtung der präzipitablen Substanz des Blutes zustande kommen kann (Graham-Smith).

Diese Befunde zeigen, daß manches Material der Praxis Säuren enthält, die die Ausführung der Reaktion stören und zu Täuschung Veranlassung geben können. Es ist daher notwendig, die Reaktion der Untersuchungsflüssigkeit zu prüfen und bei stark saurer Reaktion zu neutralisieren (mit 0,1 %iger Sodalösung oder Magnesiumoxyd). Sehr schädlich auf die präzipitable Substanz wirken starke Alkalien, wie bereits oben (pag. 45) gezeigt ist; die Reaktion kann dadurch direkt in Frage gestellt werden.

Durch die in der Praxis vorgeschriebenen Verdünnungen, in denen die Blutextrakte untersucht werden, werden wohl in den meisten Fällen die Reaktionen so gestaltet werden, daß sie nicht störend wirken. Auch konzentrierte Harnstofflösung (Eisenberg), Pepsin- und Trypsininwirkung (Michaelis und Oppenheimer) zerstören die präzipitable Substanz. Michaelis konnte mit solchem „peptisch angedauten Eiweiß", das keine Präzipitierbarkeit mehr zeigte, bei Einspritzung von Kaninchen noch Präzipitine erzeugen.

Daß starke Antiseptika bei längerer Einwirkung die reaktionsfähigen Eiweißstoffe schädigen, ist ohne weiteres klar, da sie an sich schon Eiweiß ausfällen, während flüchtige Antiseptika (Benzol, Chloroform, Äther usw.) die Eiweißstoffe in ihrer Reaktionsfähigkeit nicht beeinträchtigen. Unter den die Reaktion schädigenden Antisepticis sind nach den Untersuchungen von Graham-Smith und Nuttall u. a. zu nennen Formalin, Sublimat, Lysol, Lysoform, Kupfersulfat, Eisensulfat, Silbernitrat.

Bei gleichzeitigem Vorhandensein mehrerer Blutarten ist selbstredend die Anwendung der verschiedenen Antisera notwendig. Die Diagnose ist auch bei Gegenwart mehrerer Blutarten möglich und zwar kann aus der Mischung mehrerer Blutarten jede einzelne für sich in dieser Mischung erkannt werden.

Nach Sachs und Bauer soll für die Differenzierung von Blut in Eiweißgemischen die Methode der Komplementbindung (siehe pag. 72) besonders geeignet sein.

Wie verhält es sich nun mit der **Leistungsfähigkeit der Präzipitinmethode in der forensischen Praxis?** Ist vor allem die Methode so zuverlässig, daß man von ihrem Ausfall Leben und Tod eines Menschen abhängig machen kann?

Diese Frage ist absolut zu bejahen. Die Einwände, die anfangs von einigen Autoren (Kister und Wolff, Strube, Kratter) erhoben wurden, daß auch in „heterologen" Blutlösungen Trübungen durch Zusatz des Antiserums entstehen könnten, die immerhin wenigstens den Unerfahrenen zu irrtümlichen Deutungen Veranlassung geben könnten, haben Uhlenhuth und Beumer zu zahlreichen Nachprüfungen veranlaßt.

Die Beobachtung der heterologen Trübungen basiert zum großen Teil darauf, daß alle die Autoren, die solche beschrieben haben, nicht nach einheitlichen Gesichtspunkten gearbeitet haben, vor allen Dingen nicht mit jenen Kautelen, die wir im Interesse der Methode für notwendig halten. In der Art und Weise wie Uhlenhuth und Beumer die Reaktion ausführten, sind ihnen Trübungen, welche zu Irrtümern Veranlassung geben konnten, nicht vorgekommen; daß sie aber bei nicht quantitativem Arbeiten auftreten können, ist klar. Denn alle Immunitätsreaktionen sind nur absolut spezifisch, wenn quantitativ gearbeitet wird. Man denke nur an die Agglutination usw. Es ist daher unbedingt erforderlich, daß die biologische Reaktion nach ganz bestimmten Grundsätzen ausgeführt wird.

Das Urteil von Uhlenhuth und Beumer über die heterologen Trübungen ist folgendes:

1. Wird die Untersuchung in der von ihnen angegebenen Weise (s. o.) angestellt, so entstehen keine heterologen Trübungen.
2. Heterologe Trübungen sind hervorzurufen, wenn konzentrierte Blutlösungen bei erheblichem Zusatz hochwertigen Antiserums verwendet werden.
3. Die in starken Blutlösungen nach längerem Stehen selten auftretenden Trübungen können keinen Zweifel bezüglich der Sicherheit der Untersuchungsmethode aufkommen lassen, da sie bezüglich der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens mit spezifischen Trübungen nicht im entferntesten zu verwechseln sind.

Im übrigen sind sie auch nach Ansicht aller Autoren leicht zu vermeiden, indem man entweder eine konzentriertere Blutlösung und ein schwach wirkendes Antiserum (1:100) wählt, wie das von Kister und Wolff und Strube bereits festgelegt ist, oder aber, was rationeller ist, indem man eine schwache Blutlösung nimmt und ein hochwertiges Antiserum (Uhlenhuth). Die letzte Methode ist entschieden der ersten vorzuziehen und zwar deshalb, weil sie den praktischen Verhältnissen viel mehr entspricht, denn erfahrungsgemäß handelt es sich sehr häufig um winzige Blutspuren, aus denen nur eine sehr schwache Eiweißlösung zu gewinnen ist. Die Voraussetzung ist aber bei der letzten Methode ein hochwertiges Serum. Nuttall hat bei 16000 auf diese Weise ausgeführten biologischen Reaktionen nie-

mals heterologe Trübungen gesehen, die zu Verwechslungen hätten Anlaß geben können. Dieselben Erfahrungen hat W. A. Schmidt gemacht.

Da Kister und Weichardt sehr starke Lösungen zur Reaktion benutzten, wodurch der Abstand der Reaktionsgrenzen für das homologe und heterologe Blut möglichst klein wurde, so suchten sie nach einer Methode, die mit Sicherheit die Ausschaltung heterologer Trübungen ermöglichte. Dieses gelang ihnen mit Hilfe der **„spezifischen Absättigung“***) (s. auch oben).

Sie nahmen ihre Versuche mit Menschen- und Pferdeblut vor und führten sie in folgender Weise aus:

Um aus dem Menschenblut diejenigen Bestandteile zu entfernen, die beim Zusatz von Pferdeantiserum eine Trübung hervorzurufen vermögen, setzten sie zu 5 ccm Menschenblutserumlösung von 1 : 200 ein Pferdeantiserum im Verhältnis von 1 : 10 (0,5 ccm) zu.

Nach eingetretener Reaktion wurde das Präzipitat durch Zentrifugieren abgeschieden und die überstehende klare Flüssigkeit abgegossen. Sodann wurde der klaren Flüssigkeit abermals Pferdeantiserum und zwar 0,1 ccm zugesetzt. Die dadurch von neuem sich trübende Flüssigkeit wurde wieder durch Zentrifugieren geklärt, vom Bodensatz abgegossen und zum dritten Male 0,1 ccm Pferdeantiserum zugefügt. Diesen Vorgang wiederholten sie solange, bis sie in der klaren Flüssigkeit durch Pferdeantiserumzusatz keine Trübung mehr hervorrufen konnten. Nach fünfmaligem Antiserumzusatz war solches erreicht. Waren nun alle auf Pferdeantiserum reagierenden Serumbestandteile allein aus dem Menschenblut entfernt, so mußten jetzt die auf Menschenblutserum wirkenden spezifischen Stoffe noch in der Flüssigkeit vorhanden sein. Um diese nachzuweisen, fügten sie 0,1 ccm Menschenantiserum hinzu und beobachteten dann eine sofort auftretende deutliche Trübung in der Blutlösung.

In einem zweiten analogen Versuch setzten sie, um aus Pferdeblut die darin enthaltenen, auf Menschenantiserum reagierenden Bestandteile zu entfernen, zu 5 ccm Pferdeblutserumlösung von 1 : 200 ein Menschenantiserum im Verhältnis 1 : 10 (0,5 ccm), dann fügten sie nach Zentrifugieren und Abgießen der Flüssigkeit vom abgeschiedenen Bodensatz wieder 0,1 ccm solange zu, bis das Menschenantiserum keine Trübung mehr bewirkte. Jetzt wurde 0,1 ccm Pferdeantiserum zugefügt und es trat dann sofort Trübung auf.

Durch diese beiden Versuche zeigten die Autoren, daß man aus Menschen- und Pferdeblut die auf die heterologen Antisera reagierenden Serumbestandteile zu entfernen imstande ist, so daß man eine Blutlösung erhalten kann, die nur auf homologes Antiserum reagiert.

Die Methode der Absättigung ist, wie ersichtlich, sehr umständlich und hat ein mehr theoretisches Interesse. Für die forensische Praxis kommt sie nicht in Betracht, da, wie wir gesehen haben, durch genaues quantitatives Arbeiten störende heterologe Trübungen vollkommen auszuschließen sind.

Hat die biologische Methode nach den Ergebnissen der Arbeiten von Uhlenhuth, Nuttall, Kister und Weichardt durch die heterologen Trübungen nichts an Wert verloren, so erfährt sie eine gewisse Einschränkung durch die sogenanten „Verwandtschaftsreaktionen“.

---

*) Das Verfahren ist patentiert, s. Ad. Kurtek Patentschrift Nr. 147782, Klasse 30 h. 4. Oktober 1902.

Verwandtschaftsreaktionen (Uhlenhuth und Nuttall) und Unterscheidung verwandter Blutarten.

wie sie zwischen ganz nahe verwandten Blutarten z. B. Pferde- und Eselblut, Hammel-, Ziegen- und Rinderblut, Hund- und Fuchsblut, Schweine- und Wildschweinblut, Menschen- und Affenblut usw. auftreten. (Uhlenhuth.) Beispiele:

1. Das Serum eines mit Schweineblut vorbehandelten Kaninchens gibt einen Niederschlag nur in der Blutlösung vom Schwein und einen etwas schwächeren in der Blutlösung vom Wildschwein, während alle heterologen zur Kontrolle verwandten Blutsorten klar bleiben. Als Kontrolle dienten die Blutlösungen folgender Tiere:

Rind, Pferd, Esel, Hammel, Ziege, Schwein, Huhn, Fledermaus, Taube, Ente, Gans, Eule, Krähe, Sperling, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Maus, Igel, Hund, Fuchs, Katze, Hirsch. — Mensch.

2. Das Serum eines Pferdeblutkaninchens gibt einen Niederschlag in Pferdeblutlösung und etwas schwächeren in Eselblutlösung. Die übrigen Blutlösungen bleiben klar. Umgekehrt verhält sich das Serum eines Eselblutkaninchens.

3. Das Serum eines Fuchsblutkaninchens gibt einen Niederschlag in Fuchsblutlösung, einen schwächeren in Hundeblutlösung, alle übrigen bleiben klar. (Blutlösungen des Wolfes und Schakals, die sich wohl ebenso wie die des Hundes verhalten dürften, standen nicht zur Verfügung.)

4. Das Serum eines Igelblutkaninchens gibt einen Niederschlag nur in der Igelblutlösung.

5. Das Serum eines Katzenblutkaninchens gibt einen Niederschlag nur in Katzenblutlösung. Kontrollen klar. Das Blut der übrigen katzenartigen Raubtiere stand bisher nicht zur Verfügung.)

6. Das Serum eines Hammelblutkaninchens gibt einen Niederschlag in einer Hammelblutlösung, einen fast ebenso starken in Ziegenblut- und einen schwächeren in Rinderblutlösung.

7. Das Serum eines Rinderblutkaninchens gibt einen starken Niederschlag in Rinderblutlösung, einen schwachen in Ziegen- und auch Hammelblutlösung.

Was die Verwandtschaftsreaktionen zwischen Menschen- und Affenblut anlangt, wie sie zuerst von Uhlenhuth, Wassermann, Stern und Nuttall beobachtet wurden, so sei hier eine Versuchsreihe von Nuttall und Uhlenhuth aufgeführt.

Das Serum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens ergab, zu 34 verschiedenen Menschenblutarten hinzugefügt, in allen Fällen einen starken Niederschlag.

Dasselbe Serum zu 8 Blutsorten von menschenähnlichen Affen (Orang-Utang, Gorilla, Schimpanse) zugesetzt, ergab in allen acht Fällen einen ebenso starken Niederschlag wie in Menschenblut. Etwas schwächer reagierte auf dieses Serum das Blut von Hundsaffen und Meerkatzen; von 36 verschiedenen Blutarten dieser Gruppe gaben nur 4 eine „volle“ Reaktion, in allen anderen Fällen war auch eine deutliche, aber erst nach längerer Zeit auftretende Trübung zu verzeichnen. Soweit das Resultat bei den Affen der alten Welt. Noch schwächer wurde die Reaktion bei den Affen der neuen Welt.

Hier ergab dasselbe Serum zu 13 der Cebidengruppe gehörigen Affenblutsorten keine „volle" Reaktion mehr, ein Niederschlag trat nicht mehr auf und es war nur noch nach längerer Zeit eine leichte Trübung zu verzeichnen. Dasselbe Resultat wurde bei 4 Hapaliden (Krallenaffen) erzielt.

Das Blut zweier Lemuren (Halbaffen) reagierte überhaupt nicht mehr.

Uhlenhuth kam zu den gleichen Ergebnissen, nur stellte er fest, daß mit hochwertigen Seris auch noch eine Reaktion in Blutlösungen der Halbaffen zu erzielen war.

Aus diesen hier angeführten Tatsachen ergibt sich, daß man imstande ist, die Verwandtschaft verschiedener Tiere im Reagenzglase ad oculos zu demonstrieren (Uhlenhuth, Nuttall). Diese naturwissenschaftlich hochinteressanten Beobachtungen müssen natürlich bei der forensischen Diagnose der betreffenden Tierblutart wohl berücksichtigt werden.

Hat man frisches flüssiges Blut zur Verfügung, z. B. Pferde- und Eselblut, so ist die Unterscheidung allenfalls noch möglich. Man wird sich dann Blutlösungen ganz bestimmter Konzentration herstellen, z. B. 1:100, 1:1000, 1:10000 und 1:20000, und nunmehr die gleichen Mengen, z. B. 0,1 ccm von Blutserum eines mit Pferdeblut vorbehandelten Kaninchens hinzusetzen. Während bei den stärkeren Lösungen (1:100) von Pferde- und Eselblut die Reaktion ziemlich gleich intensiv und schnell verläuft, zeigt sich in den schwachen Lösungen 1:10000 bis 1:20000 meist ein gewisser Unterschied in der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens der Reaktion, d. h. in der Pferdeblutlösung wird in diesem Falle die Trübung stärker und schneller auftreten wie in der Eselblutlösung: Man könnte also in solchen Fällen noch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit Pferde- und Eselblut unterscheiden. Jedoch ist das auch eine unsichere Methode, denn eine mathematisch gleichmäßig starke Verdünnung von mehreren, selbst frischen Serumlösungen ist kaum möglich. Das Serum von Tieren schwankt in seiner Eiweißkonzentration; bald ist es mehr dickflüssig, bald dünnflüssiger; Zustände, die mehr oder weniger mit den Verdauungsstadien der Tiere zusammenhängen.

So wird eine nach Vorschrift hergestellte Serumverdünnung von 1:10000 z. B. von Pferde- und Eselserum in einem Falle mehr, im anderen weniger Eiweiß enthalten. Wir konnten feststellen, daß bei Prüfung zahlreicher, genau auf 1:1000 eingestellter Serumlösungen von verschiedenen Tieren die Salpetersäurekochprobe recht verschieden starke Trübungen ergab. Für naturwissenschaftliche Studien, wo man an beliebig vielen Blutseris arbeiten kann, ist immerhin die Methode verwertbar, nicht jedoch für die forensische Praxis, wo man über ein ganz bestimmtes, vorgelegtes Material ein Gutachten abgeben soll.

Die auf die beschriebene Weise in die Erscheinung tretenden verwandtschaftlichen Beziehungen verschiedener Tiere sind nur dann recht deutliche, wenn das Serum ein möglichst hochwertiges ist. Man sieht dann z. B. beim Nachweis der Verwandtschaft von Hammel, Ziege und Rind, daß das Hammelblutkaninchenserum einen momentanen sehr starken Niederschlag in Hammelblutlösung erzeugt, einen etwas schwächeren in Ziegenblut und wiederum einen noch schwächeren in Rinderblutlösung. Man kann dann deutlich sehen, daß das Rind dem Schaf nicht so nahe steht, wie die Ziege dem Schaf. Ist das Serum nicht hochwertig, so kann es einem passieren, daß man in

der Rinderblutlösung überhaupt keine Trübung mehr erzielt. Aus den angegebenen Gründen ist aber auch hier die größte Vorsicht geboten.

Ganz besonders schwierig liegen die Verhältnisse bei angetrocknetem Blut, wie es in der forensischen Praxis ja fast ausschließlich vorkommt. Da ist es erst recht nicht möglich, genau quantitativ zu arbeiten; infolgedessen kann man es erleben, daß bei vermeintlich gleichstarken Lösungen von Pferde- und Eselblut bei Anwendung von Pferde-Antiserum im Eselblut eine stärkere Reaktion auftritt wie im Pferdeblut. Vom forensischen Standpunkte aus ist daher auf diesem Wege eine sichere Unterscheidung von so nahe verwandten Blutarten wie denen des Pferdes und des Esels nicht möglich.

Hamburger gibt allerdings an, daß ihm die Differenzierung zwischen Hammel- und Ziegenblut sowie Rinderblut auch in angetrocknetem Zustande gelungen sei. Er fand, daß die spezifische Reaktion jedesmal in der Blutlösung am stärksten auftrat, die mit dem zugehörigen Antiserum beschickt war. Er führte seine Untersuchung in folgender Weise aus:

„Nachdem vom Blutfleck ein klarer Auszug mit 0,9 %iger Kochsalzlösung angefertigt war, wurden von demselben drei gleiche Portionen in kleine Reagenzröhrchen gebracht und mit gleichen Volumina von Ziegen-, Schaf- und Rinder-Antiserum versetzt. Stammte nun der inkriminierte Fleck wirklich von der Ziege, so mußte die Reaktion mit Ziegenantiserum am kräftigsten sein, stammte er vom Schaf, so mußte die Reaktion mit Schafserum am intensivsten ausfallen, und stammte er endlich vom Rind, so war zu erwarten, daß die Trübung mit Rinderantiserum am ausgiebigsten ausfiel. Stets war die Reaktion mit Ziegenantiserum am kräftigsten, der Fleck stammte also zweifellos von einer Ziege."

Bei diesen Versuchen ist aber Voraussetzung, daß die drei Antisera ungefähr die gleiche Wertigkeit besitzen. Um das zu erreichen, injizierte Hamburger drei Serien von je drei Kaninchen mit gleichen Quantitäten Ziegen-, Schaf- und Rinderserum in gleichen Intervallen. nach der fünften oder sechsten Injektion bekam er dann gewöhnlich eine Serie von Ziegen-, Schaf- und Rinderantiseris, die untereinander etwa gleichwertig waren, d. h. gleiche Mengen dieser Sera gaben mit gleich stark verdünntem Ziegen-, Schaf- und Rinderserum eine Fällung von ungefähr gleicher Intensität. Mit dieser Methode glaubte Hamburger in einwandfreier Weise die Herkunft dieser verwandten Tierspezies feststellen zu können.

Uhlenhuth, der, wie gesagt, ähnliche Untersuchungen angestellt hat, fand, daß man mit diesem Verfahren bei frischem flüssigen Blut vielleicht zum Ziele kommen kann, daß aber die Methode bei angetrocknetem Blute ganz unzuverlässig ist.

Interessant ist die neuerdings von Uhlenhuth, Weidanz*) und Trommsdorff festgestellte Tatsache, daß Ratten- und Mäuseblut, die man eigentlich für sehr nahe verwandt halten sollte, selbst im eingetrockneten Zustande sich ohne weiteres mit Hilfe der Präzipitinreaktion und Komplementbindung unterscheiden lassen. Ein Ratten-Antiserum gibt einen starken Niederschlag im Rattenblut; Mäuseblut wird fast gar nicht beeinflußt. Es geht aus diesen Untersuchungen hervor, daß die Verwandtschaft zwischen Ratte und Maus gar nicht so nahe ist, wie man bisher angenommen hat. Daraus erklärt sich vielleicht auch die mangelnde Empfänglichkeit der Ratten für den Mäusekrebs.

*) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1909, Bd. XXX, Heft 2.

Bemerkenswert ist allerdings die Tatsache, daß mit Hilfe der Anaphylaxie-Reaktion bei Meerschweinchen, eine Differenzierung von Ratten- und Mäuseblut nicht möglich ist (Trommsdorff).

Auch die erwähnte Weichardtsche Absättigungsmethode hat für die Unterscheidung verwandter Blutarten bisher eine praktische Bedeutung nicht erlangt.

Jedoch seien des theoretischen Interesses wegen die Versuche von Weichardt zur Unterscheidung von Menschen- und Affenblut hier aufgeführt:

Es wurden je einem Kaninchen viermal je 5,0 ccm mit etwas Phenol versetztes menschliches Serum intravenös injiziert und zwar von ein und demselben weiblichen Individuum (I). Am 26. Tage wurden dem Kaninchen etwa 40 ccm Blut aus der linken Carotis entnommen. Das von diesem Blut erhaltene Diagnosenserum erwies sich als so hochwertig, daß 0,3 ccm desselben zu 0,1 ccm mit 10,0 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnten menschlichen Serums gefügt, sofort deutliche Präzipitintrübung ergaben. Dieses menschliche Serum war z. Z. des Versuches 4 Wochen alt, es war mit 0,5 %igem Phenol versetzt und im Eisschranke aufbewahrt worden; 1,0 ccm desselben enthielt 0,07 Gesamteiweiß (Kjeldahl). Dem Diagnosenserum wurde zunächst der 10. Teil Affenserum I zugemischt und die Flüssigkeit von dem nach 15 Stunden im Eisschrank entstandenen Niederschlage mittels eines kleinen nicht zu dichten Tonfilters getrennt. Nochmals wurde $^1/_{10}$ Affenserum hinzugefügt und das Serum von dem Niederschlage wiederum getrennt und filtriert, 0,5 ccm des so gewonnenen Diagnosenserums (K. D. S. Msp.) versetzt mit 0,1 ccm Menschenserum I, in 10 ccm physiol. Kochsalzlösung (Eiweißgehalt im ccm 0,07) ergab nach 15 Minuten bei Zimmertemperatur deutliche Trübung, nach 5 Stunden flockige Präzipitation. Dann wurde die gleiche Menge des Diagnosenserums (K. D. S. Msp.) mit dem Serum eines männlichen menschlichen Individuums (II) (Eiweißgehalt 0,06) versetzt. Die Reaktion verlief nahezu wie vorher; nach $^1/_4$ Stunde deutliche Trübung, nach 5 Stunden fast genau dieselbe Menge flockigen Präzipitinniederschlags.

Die Reaktion von 0,5 ccm des Diagnosenserums (K. D. S. Msp.) zu 0,1 ccm mit 10 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnten Affenserums I versetzt verlief dagegen ganz anders; hier entstand keine Trübung, nach 9 Stunden erst eine Spur eines feinen Niederschlages.

Die Reaktion von 0,5 ccm des Diagnosenserums (K. D. S. Msp.) zu 0,1 ccm mit 10 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünntem Affenserums (II) zugesetzt verlief der vorigen ähnlich.

„Der Artunterschied zwischen Affen- und Menschenblut war somit deutlich und für Jedermann in die Augen fallend.“ (Hyg. Rundschau, 1903, Bd. XV).

Die Herstellung derartiger einwandfreier Diagnosensera ist aber eine äußerst diffizile und stößt selbst in der Hand des Geübten oft auf unüberwindliche Schwierigkeiten (Uhlenhuth, Ehrnrooth).

In einfacherer Weise hat dann Uhlenhuth die Unterscheidung nahe verwandter Blutarten versucht. Den Anlaß zu diesen Untersuchungen gab ihm ein Gutachten, welches er für die Staatsanwaltschaft in St. zu erstatten beauftragt war

Es wurde ihm ein blutbefleckter Spazierstock mit dem Ersuchen übersandt, die Herkunft dieser Blutflecken festzustellen.

Der Mann, bei dem der Stock gelegentlich einer Haussuchung gefunden wurde, stand im Verdacht, ein Reh oder ein kleineres Stück Wild,

Hase, Fuchs oder dergl., erlegt und auf dem Stocke fortgetragen zu haben. Der Mann behauptete aber, die Blutflecken rührten von Gänseblut her; seine Mutter habe Gänse geschlachtet und aufgehängt, der Stock habe unter diesen Gänsen gestanden und das Blut sei an dem Stocke herunter gelaufen.

Es konnte zunächst festgestellt werden, daß das Serum eines mit Gänseblut vorbehandelten Kaninchens in der Lösung des vom Stocke abgekratzten bluthaltigen Materials einen Niederschlag nicht hervorrief, daß also Gänseblut somit ausgeschlossen war.

Ebenso konnte Uhlenhuth bei Anwendung eines Rehblutantiserums Rehblut mit Sicherheit ausschließen. Um nun weiterhin zu entscheiden, ob Hasenblut vorlag, versuchte er, ein Hasenantiserum herzustellen. Zu diesem Zwecke behandelte er Kaninchen mit Hasenblut vor, obwohl sich dagegen gewisse theoretische Bedenken — wegen der nahen Verwandtschaft des Hasen mit dem Kaninchen — geltend machten. Denn es war eine bis dahin allgemein verbreitete Ansicht, daß Tiere auf die Einspritzung einer nahe verwandten Blutart mit der Bildung von Präzipitinen nicht reagieren.

Um nun aber auf jeden Fall ein auf Hasenblut wirksames Antiserum zu erhalten, wurden außer drei Kaninchen gleichzeitig drei Hühner, also dem Hasen nicht verwandte Tiere, mit Hasenblut vorbehandelt. Da frisches Hasenblut damals während der Schonzeit nicht zu bekommen war, so bediente sich Uhlenhuth angetrockneten, vier Jahre alten Hasenblutes, welches er in 0,85 %iger Kochsalzlösung auflöste.

Alle drei Kaninchen lieferten zu Uhlenhuths großer Überraschung brauchbare Hasenblut präzipitierende Sera. Auch die drei Hühner lieferten nach 4—5 intramuskulären Einspritzungen von Hasenblut gut wirksame Sera.

Die von den Kaninchen wie von den Hühnern gewonnenen Sera reagierten beide auf Hasenblut, zeigten aber folgende Unterschiede:

Das Serum der mit Hasenblut vorbehandelten Kaninchen zu den verschiedensten Blutlösungen zugesetzt gab nur im Hasenblut eine Reaktion; die Blutlösungen von zahmen und wilden Kaninchen blieben vollkommen klar. Mit dem vom Huhn gewonnenen Hasenantiserum war dagegen eine sichere Unterscheidung von Hasen- und Kaninchenblut nicht möglich, denn es erzeugte einen Niederschlag sowohl in Hasen- wie in Kaninchenblut.

Uhlenhuth schloß aus diesen Untersuchungen:

1. daß der Kaninchenorganismus imstande sei, Präzipitine gegen das Bluteiweiß des ihm nahe verwandten Hasen zu bilden, und

2. daß es auf diese Weise möglich sei, das Blut zweier so verwandter Tiere, wie Hase und Kaninchen, mit Sicherheit von einander zu unterscheiden.

Mit Hilfe des von Kaninchen gewonnenen Hasen-Antiserums führte er denn auch den sicheren Beweis, daß das an dem Spazierstock des Wilddiebes befindliche Blut aus Hasenblut bestand.

Die von Uhlenhuth gefundene Tatsache, daß der Tierkörper auch auf die Einspritzung einer verwandten Blutart mit der Bildung von Präzipitinen zu reagieren vermag, war neu und stand, wie gesagt, mit den in der Literatur niedergelegten Beobachtungen in gewissem Widerspruch.

So konnte Bordet von Meerschweinchen keine Präzipitine gegen Kaninchenblut erzeugen, ebenso konnte Nolf von der Taube, der er Hühnerblut einspritzte, kein Serum gewinnen, welches Hühnerblut präzipitierte.

Biondi spritzte einen Affen mit Menschenblut ein, er lieferte aber kein wirksames Antiserum. Schur konnte durch Einspritzung von Ziegenblut beim Schaf kein Immunserum gewinnen.

Die Gründe für diese Mißerfolge führt Uhlenhuth darauf zurück, daß man bisher vielleicht nur an einer zu kleinen Zahl von Tieren gearbeitet hatte, ohne systematische Untersuchungen an einem größeren Tiermaterial anzustellen. Die vereinzelten negativen Resultate habe man dann verallgemeinert in der vorgefaßten Ansicht, daß die nahe Verwandtschaft ein Hindernis für die Präzipitinbildung darstelle. Man hätte aber die Tatsache berücksichtigen müssen, daß oft auch von 6—8 Kaninchen, die mit ganz fremdem Eiweiß vorbehandelt werden, vielleicht nur zwei brauchbare Sera liefern.

Die in derselben Richtung angestellten Versuche an Hühnern und Tauben bewiesen dann weiterhin, daß Hühner- gegen Taubenblut und Tauben- gegen Hühnerblut Präzipitine zu liefern imstande sind, so daß man mit diesen präzipitierenden Seris in der Lage ist, Tauben- und Hühnerblut zu unterscheiden, während das mit den vom Kaninchen gewonnenen Antiseris nicht gelingt.

Von hohem Interesse war es nun für Uhlenhuth, diese Experimente auf die Unterscheidung von Menschen- und Affenblut auszudehnen. Analog den früheren Versuchen hätte er nun Menschen mit Affenblut und Affen mit Menschenblut einspritzen müssen. Da sich die erste Versuchsanordnung von selbst verbot, so behandelte er Affen mit Menschenblut vor. Es wurden mehrere Affen der alten Welt (Cercopithecus fuliginosus und Macacus rhesus) in geeigneten Zwischenräumen (alle 6 Tage) mit 5—10 ccm menschlichen Serums eingespritzt. Diese Tiere lieferten dann Sera, welche in Menschenblutlösungen eine deutliche Trübung erzeugten. Affenblut zeigte dagegen nicht die geringste Reaktion, und so war es ein leichtes, mit diesem von Affen gewonnenen Serum Menschen- und Affenblut zu unterscheiden, während das mit einem von Kaninchen gewonnenen Menschen-Antiserum nicht gelingt. Es muß allerdings hervorgehoben werden, daß diese Antisera wegen der nahen Artverwandtschaft nicht sehr hochwertig waren. Jedenfalls ist es aber möglich, bei verwandten Tieren wie Huhn und Taube, Hase und Kaninchen, Mensch und Affe durch gegenseitige Einspritzung ihres Blutes praktisch verwertbare Präzipitine zu erzeugen.

Was den Grad der Verwandtschaft dieser Tiere betrifft, so kann man nicht behaupten, daß Huhn und Taube sich zoologisch sehr nahe stehen, wohl aber biologisch, da ein Hühnerblutantiserum im Hühner- und Taubenblut eine starke Reaktion auslöst.

Hase und Kaninchen sind vom zoologischen Standpunkt recht nahe verwandte Tiere, trotzdem sie in ihrem Körperbau und ihrem Naturell bemerkenswerte Unterschiede aufweisen. Es ist sogar behauptet worden, daß eine Kreuzung zwischen Hasen und Kaninchen vorkommen soll, wenigstens sagt Brehm:

„Man hat wiederholt vollkommen fortpflanzungsfähige Bastarde von Hase und Kaninchen erzielt und namentlich in Frankreich weiter gezüchtet, sogenannte Hasenkaninchen oder Leporiden. Sie wurden von Haeckel „Lepus Darwinii“ benannt, scheinen aber noch keine festen Artmerkmale angenommen zu haben.“

Landois hat bereits durch seine Transfusionsversuche die Blutsverwandtschaft zwischen Hasen und Kaninchen zu beweisen gesucht. Er konnte feststellen, daß Hasenblut im Kaninchenorganismus nicht auf-

gelöst und reaktionslos vertragen wird, während sonst fremdartiges Blut stürmische, durch Blutauflösung bedingte Erscheinungen hervorruft.

Friedenthal hat ähnliche Untersuchungen angestellt und konnte besonders auch die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen und Affen durch Transfusionsversuche demonstrieren. Er hat einem Makakus ein Quantum Menschenserum, welches $^1/_8$ der Blutmenge des Affen betrug, in die Vene eingespritzt. Bis auf eine ganz kurz dauernde unbeträchtliche Hämoglobinurie vertrug er das Menschenblut anstandslos. Uhlenhuth legt allen diesen Transfusionsversuchen als Beweis für eine Blutsverwandtschaft nicht allzugroße Bedeutung bei, da z. B. Kaninchen das artfremde Pferdeserum in großen Dosen (bis zu 100 ccm) von der Blutbahn aus ausgezeichnet vertragen.

Durch die Tatsache, daß so nahe verwandte Tiere wie Hase, Kaninchen usw. auf die Einspritzung ihres Blutes gegenseitig mit der Bildung von Präzipitinen reagieren, wird zur Evidenz erwiesen, daß trotz der so nahen Verwandtschaft doch noch recht bemerkenswerte Unterschiede in der Zusammensetzung des Körpereiweißes vorhanden sein müssen. Eine Kreuzung hält Uhlenhuth daher für ausgeschlossen.

Wir werden durch diese Untersuchungen dazu gedrängt, danach zu forschen, wo denn in der Verwandtschaft der Tiere die Grenze liegt, bei der eine Präzipitinbildung nach Einspritzung einer verwandten Blutart nicht mehr zu konstatieren ist.

Schütze fand, daß ein Kaninchenserum vom Kaninchen, welches mit Kaninchenblut vorbehandelt war, in 2 von 32 untersuchten Kaninchenblutlösungen eine Präzipitinreaktion erzeugte und glaubte eine Isopräzipitinbildung annehmen zu müssen.

Die Reaktion war nach Schützes Ansicht streng spezifisch; trotzdem er nur feststellte, daß das Serum auf Meerschweinchen- und Menschenblut — also nur 2 Blutsorten — nicht reagierte. Auch gewann Schütze Isopräzipitin von Ziegen, die er mit Ziegenmilch behandelte. Das erscheint wahrscheinlicher, da Milch- und Bluteiweiß ja auch chemisch und biologisch different sind. Es mag bei dieser Gelegenheit erwähnt werden, daß Kaninchen im Gegensatz zu andern Tieren auch niemals Isolysine bilden, wie die auf Uhlenhuths Anregung ausgeführten Untersuchungen von W. Schultz beweisen. Auch Ehrlich hat persönlichen Mitteilungen zufolge niemals Isolysinbildung bei Kaninchen gesehen.

Solche Isopräzipitine sind späterhin von Uhlenhuth und anderen Autoren trotz der umfangreichsten Untersuchungen nicht wieder beobachtet worden. Zahlreiche zahme Kaninchen, welche selbst mit dem hypothetisch doch wohl etwas differenten wilden Kaninchenblut vorbehandelt wurden, zeigten niemals Isopräzipitine in ihrem Serum (Uhlenhuth). Es gelang auch nicht Pferde, die mit großen Dosen Eselserum (bis 500 ccm für jede Injektion) vorbehandelt wurden, zur Produktion von Präzipitinen gegen Eseleiweiß anzuregen; ebenso lieferten Hammel keine Präzipitine gegen Ziegenblut und umgekehrt. Selbst mit Hilfe der noch zu besprechenden sehr empfindlichen Methode der Komplementbindung kann man in diesen Fällen eine Antikörperbildung nicht nachweisen (Uhlenhuth und Weidanz).

Wir möchten behaupten, daß das Ausbleiben der Präzipitinbildung das feinste Reagens ist für den Nachweis naher Blutverwandtschaft unter den Tieren. Uhlenhuth glaubt, daß diesen Tatsachen auch insofern eine Bedeutung beizumessen ist, als Kreuzungen nur zwischen Tierspezies möglich seien, die bei der kreuzweisen Immunisierung keine Antikörperbildung aufweisen.

Durch die Anwendung dieser sog. „kreuzweisen Immunisierung" sind wir in der Methodik der Blutdifferenzierung schon einen Schritt weiter gekommen, indem wir wenigstens einzelne sehr nahe verwandte Blutarten differenzieren können. Daß jedoch auch diese Methode ihre Grenzen hat, zeigen die negativen Differenzierungsversuche zwischen Pferd- und Esel-, Hammel- und Ziegenblut; ebensowenig ist auf diesem Wege eine Rassendifferenzierung oder eine Differenzierung der verschiedenen Individuen einer Art gelungen. Mit dieser letzten Frage hat sich Weichardt eingehend beschäftigt. Mit seiner schon mehrfach erwähnten „Absättigungsmethode", die er, wie wir oben gesehen haben, zur Differenzierung von Menschen- und Affenblut verwandte, hat er auch versucht, das Blut zweier verschiedenen Individuen zu unterscheiden.

„Um 2 Blutsorten zweier menschlichen Individuen zu unterscheiden, wurden dem Diagnosenserum von dem Kaninchen, welches nach der Blutentnahme aus der linken Carotis mit Blutserum des weiblichen Individuums I (s. oben pag. 64) noch fortbehandelt worden war, $^1/_{10}$ Menschenblutserum II zugesetzt und die Flüssigkeit von dem in 15 Stunden entstandenen Präzipitat abfiltriert. Nochmaliges Versetzen mit $^1/_{10}$ Menschenblutserum II, Absitzenlassen und Filtrieren. 0,3 ccm dieses klaren Diagnosenserums (K. D. S. Msp.) wurden zugefügt zu 0,1 ccm mit 10 ccm physiol. Kochsalzlösung vermischten Menschenserums I (Eiweißgehalt nach Kjeldahl 0,06) und dieselbe Menge (0,3 ccm) Diagnosenserums zu 0,1 ccm gleichfalls mit Kochsalzlösung verdünnten Menschenserums II (Eiweißgehalt 0,06). Reaktion mit Menschenserum I sofort Trübung, die nach $^1/_2$ Stunde in Präzipitation überging. Mit Menschenserum II anfangs vollständig klar, nach 9 Stunden leichte Trübung. Also war zwischen den Seris der beiden menschlichen Individuen ein deutlich erkennbarer Unterschied." (Hyg. Rundschau 1903, Nr. 15.)

Auch zur individuellen Differenzierung von angetrocknetem Leichenblut hat Weichardt seine Methode benutzt. Dabei ist die möglichst gleiche Aufbewahrung resp. Behandlung erforderlich. Es eignet sich am besten sofortige Antrocknung des Leichenblutes nicht über 30° C im hohen Vakuum. Die Antrocknung muß binnen 1—2 Stunden perfekt sein, damit nicht durch Bakterienwucherungen das Trockenblut verändert wird. Das Blut ist im Exsikkator aufzubewahren.

Über die forensische Beurteilung dieser äußerst diffizilen Methode haben wir uns bereits geäußert.

Landsteiner und Richter haben versucht, eine **individuelle Blutdiagnose** auf der Beobachtung aufzubauen, daß menschliches Serum in den meisten Fällen Isoagglutinine — also Stoffe, welche Blutkörperchen anderer Individuen agglutinieren — enthält, niemals aber Autoagglutinine.

Sie untersuchten zunächst das Blut einer aus 6 Personen bestehenden Gruppe von Männern, indem sie auf dünne Blutkörperchenaufschwemmungen derselben (in 0,8 %iger Kochsalzlösung) das Serum der einzelnen Personen einwirken ließen. Dieses erhielten sie so, daß sie aus der Fingerbeere durch Einstich mehrere Bluttropfen entleerten, in Kapillaren auffingen und nach der Gerinnung die Fibrinfäden aus den Röhrchen herauszogen.

Zu einem Tropfen der Blutkörperchenaufschwemmung wurde ein kleiner Tropfen Serum mit einer Platinöse zugefügt und die Untersuchung im hängenden Tropfen vorgenommen.

Das Verhalten des Blutes dieser Individuen in bezug auf die Agglutination veranschaulichten die Autoren durch folgende Tabelle:

Serum von	Blutkörperchen von					
	Ri	Eiff	Meix	Tom	May	Weiss
Ri	—	—	+	+	+	—
Eiff	+	—	+	+	+	+
Meix	+	—	—	—	—	+
Tom	+	—	—	—	—	+
May	+	—	—	—	—	+
Weiss	—	—	—	—	—	—

Von den geprüften Blutseris war eines (Weiss) überhaupt inaktiv (ein selten vorkommender Fall), drei verhielten sich untereinander gleich (Meix, Tom, May), die Sera Eiff und Ri verhielten sich gegenüber den anderen und untereinander verschieden.

Nachdem dieses Verhalten festgestellt war, wurden Blutstropfen der einzelnen Personen auf Leinwand, Glas, Holz angetrocknet und ohne besondere Kautelen im Laboratorium aufbewahrt. Nach verschieden langer Zeit wurden die Proben abermals vorgenommen und zwar in der Art, daß von den Spuren auf Glas und Holz kleine Partikel abgelöst und zu frischen Blutkörperchenaufschwemmungen zugesetzt wurden, während bei den Blutspuren auf Leinwand kleinste herausgeschnittene Stückchen einem Tropfen der Aufschwemmung zugefügt wurden. Die Beobachtung erfolgte im hängenden Tropfen bei Zimmertemperatur und wurde ca. eine Stunde fortgesetzt. Bei den Leinwandflecken gingen sie in der Regel so vor, daß nach etwa $^1/_4$ Stunde, wenn das angetrocknete Blut im Tropfen der Kochsalzlösung sich gelöst hatte, das Deckgläschen gelüftet und die Flüssigkeit aus dem Leinwandstückchen durch Druck mit einer ausgeglühten feinen Pinzette der am Deckgläschen haftenden Flüssigkeit beigemengt wurde, worauf sie das ausgepreßte Fleckchen entfernten. Die auf diese Weise untersuchten, bis zu einem Monat lang aufbewahrten Proben, gaben dasselbe Resultat, wie die Proben mit frischem Blutserum.

Um Kontrolle zu üben, wurden die Versuche so ausgeführt, daß derjenige, der die Untersuchung vornahm, in Unkenntnis der Provenienz der Blutflecke blieb. Trotzdem gelang es fast immer, die Identifikation der Blutproben vorzunehmen. Es kam dabei kein Irrtum in dem Sinne vor, daß Blutproben, die nach der ursprünglichen Reaktion sich hätten identisch verhalten sollen, als different angesehen worden wären, wohl aber geschah es, wenn auch selten, daß zwei, der ersten Untersuchung zufolge differente Proben nicht unterschieden werden konnten.

Eine Schwierigkeit bestand darin, daß bei angetrockneten Blutspuren die Reaktion in vielen Fällen nicht so ausgesprochen war, wie bei der Reaktion mit frischem Serum. Es war deshalb nötig, sehr dünne Blutaufschwemmungen zu benutzen und auch die Entstehung sehr kleiner Häufchen von Blutkörperchen zu beachten. Durch Herstellung von Kontrollpräparaten bewahrten sie sich vor Irrtümern bei der Beurteilung der Häufchenbildung.

Die Autoren heben hervor, daß die Probe gewisse Schwierigkeiten bietet und daher eine Einübung unbedingt erfordert. Unter dieser Voraussetzung sei es aber in einer Anzahl von Fällen möglich, die Provenienz eines angetrockneten Blutfleckes von einer bestimmten Person nicht sowohl zu erkennen, als vielmehr sicher

auszuschließen. Es sei leicht einzusehen, daß einer solchen Konstatierung im konkreten Falle eine Bedeutung zukommen kann, hauptsächlich dann, wenn ein Täter Blutspuren, die sich an seiner Kleidung finden, als von seinem eigenen Blute herrührend erklären wolle.

So wurde z. B. in einem Falle seitens des Täters behauptet, daß die an seinen Kleidern gefundenen zahlreichen Blutspuren von seinem eigenen Blute herrührten, indem er vorgab, öfters an Nasenbluten gelitten zu haben, wobei die Blutbefleckung seiner Kleider zustande gekommen sein sollte. Es war nach dem damaligen Stande unserer Kenntnisse trotz der offenbaren Unwahrheit dieser Angaben prinzipiell nicht möglich gewesen, die Behauptung zu widerlegen. Mit der angeführten Probe wäre es unter gewissen Umständen gelungen, zu zeigen, daß das angetrocknete Blut nicht mit dem Blute des Täters identisch sein konnte, nämlich dann, wenn eine Lösung von Partikeln der angetrockneten Flecke eine Aufschwemmung von Blutkörperchen des Inkulpaten agglutiniert hätte. — Es leuchtet ja ein, und ist durch vielfache Proben sichergestellt, daß das Serum oder das eingetrocknete Blut eines Individuums die Blutkörperchen dieses Individuums nicht agglutiniert.

Ratsam erscheint es, soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, auf das Ausbleiben der Agglutinationsreaktion bei einer angetrockneten Blutspur kein Gewicht zu legen, da, wie erwähnt, die Reaktion durch das Eintrocknen des Blutes schwächer wird.

Würde die Agglutination der geprüften menschlichen Blutkörperchen durch ein anderes in dem untersuchten Fleck vorhandenes Agens als Menschenblut, z. B. durch Tierblut hervorgebracht worden sein, so wäre dies durch die Präzipitationsreaktion oder daran zu erkennen, daß in diesem Falle auch andere menschliche Blutkörperchenarten, die gegen menschliches Serum sich stets resistent verhalten (siehe Tabelle), beeinflußt werden würden.

Ein Hindernis für die Verwertung der Reaktion wäre es, wenn sie etwa bei ein und demselben Individuum zu verschiedenen Zeiten variiren würde. Die Autoren haben in dieser Beziehung Untersuchungen angestellt und innerhalb des Zeitraumes von 4 Monaten keine Änderung im Verhalten des Blutes bei 14 untersuchten Personen finden können. Eine Konstanz des Verhaltens wird dadurch wahrscheinlich, daß bei den zahlreichen Untersuchungen von Decastello und Sturli sich zwischen den einzelnen Bluttypen Übergänge nicht fanden.

Es ist aus dem Gesagten zu entnehmen, daß die Erkennung der Nichtzugehörigkeit eines Blutes zu einem bestimmten Individuum bis jetzt nur in einzelnen Fällen möglich sein wird.

Diese isoagglutinierende Wirkung geht nun aber im angetrockneten Blutserum schnell verloren, wie wir bereits oben gesehen haben (Uhlenhuth und Martin), außerdem scheinen Autoagglutinine auch bei krankhaften Prozessen vorzukommen.

Man hat dann auch versucht mit Hilfe der Präzipitinreaktion Geschlechtsdifferenzen im Blutserum nachzuweisen. Uhlenhuth konnte in einem Falle feststellen, daß Serum von mit Hühnereiweiß vorbehandelten Kaninchen in dem Blute von geschlechtsreifen Hühnern einen stärkeren Niederschlag erzeugte, als in dem von Hähnen. Ähnliche Versuche machte er dann mit Spermaeinspritzungen bei Kaninchen; das so gewonnene Serum präzipitierte aber das Blut von Frauen ebenso stark wie das von Männern.

Neuerdings hat Bruck die **Differenzierung von Menschenrassen** auf biologischem Wege studiert. Mit schwach präzipitierenden Seris unter Anwendung der unten zu besprechenden Komplementbindungsmethode gelang es ihm mit Hilfe eines gegen Vertreter der weißen Rasse gerichteten Antiserums, diese von den Angehörigen der mongolischen und malayischen Rasse zu unterscheiden und gleichzeitig aus den erzielten Titergrößen auf die Verwandtschaft der einzelnen Rassen untereinander zu schließen. Nach unserem Dafürhalten sind die Differenzen der Titergrößen aber so gering, daß sie sichere Schlüsse nicht zulassen.

Linossier und Lemoine gelang es nicht, mit Hilfe der Präzipitinreaktion das Blut verschiedener Rassen derselben Tierart oder verschiedener menschlicher Individuen zu unterscheiden; sie sind jedoch der Ansicht, daß daraus noch nicht auf eine absolute Indentität der Serumeiweißkörper geschlossen werden darf.

Auch neuere von Marshall und Teague ausgeführte Untersuchungen konnten die Angaben von Bruck nicht bestätigen; weder mit Hilfe der Präzipitinreaktion noch mittels der Komplementbindung konnten sie das Blut verschiedener Menschenrassen differenzieren.

Auf die Verwandtschaftsreaktion hat man bei Abgabe eines Gutachtens Rücksicht zu nehmen. Praktisch spielen sie keine erhebliche Rolle, da nach den Angaben der Gerichte meist schon das Blut einer verwandten Tierart ausgeschlossen ist; doch empfiehlt es sich, in dem Gutachten darauf hinzuweisen. So würde man beispielsweise, wenn die verdächtige Blutlösung bei Zusatz eines Menschenantiserums einen deutlichen Niederschlag geben würde, sagen: „es besteht das untersuchte Blut aus Menschenblut, falls Affenblut auszuschließen ist“ (Uhlenhuth, Strauch).

Sollte die Unterscheidung von Menschen- und Affenblut verlangt werden, so müßte man das Serum eines mit Menschenblut vorbehandelten Affen heranziehen. Für die Praxis kommt das in unseren Gegenden kaum in Betracht.

Schließlich möchten wir noch ausdrücklich empfehlen, jede biologische Reaktion, die vor Gericht einen Entscheid abgeben soll, zur Sicherheit mehrfach zu wiederholen, damit Irrtümer ausgeschlossen werden.

Komplementbindungsmethode.

Die Komplementbindungsmethode ist von Neisser und Sachs zur Kontrolle und Ergänzung der Präzipitinmethode in Vorschlag gebracht worden.

Über das Wesen und Zustandekommen des Phänomens der sogenannten Komplementbindung, wie es von Bordet, Gengou und Moreschi zuerst beobachtet und beschrieben worden ist, sind unsere Ansichten noch keineswegs geklärt. Soviel steht jedoch fest, daß Präzipitation und Komplementbindung in der Regel parallel gehen.

Da, wo eine Präzipitinwirkung stattgefunden hat, wird man in den zugleich ein hämolytisches System (Hämolysin und Blutkörperchen) enthaltenden Röhrchen ein Ausbleiben der Blutauflösung beobachten und daher

eine deckfarbene Blutaufschwemmung vor sich haben, in der sich die Blutkörperchen allmählich zu Boden senken, während die darüber stehende Flüssigkeit vollkommen klar und farblos bleibt. Da, wo keine Präzipitinwirkung zustande gekommen ist, konstatiert man dagegen vollständige Hämolyse, die in einer lackfarbenen roten Blutlösung deutlich zum Ausdruck kommt.

Diese Farbenreaktion ist natürlich im höchsten Maße eklatant und in Fällen, wo die Präzipitinreaktion in sehr starken Verdünnungen nur angedeutet ist, dokumentiert sich der positive Ausfall dieser Reaktion noch in auffallender Weise durch Ausbleiben der Hämolyse.

Die wissenschaftlichen Grundlagen dieser Methode sind absolut sichere, und es kann auch auf Grund theoretischer Erwägungen an der Zuverlässigkeit der Methode nicht gezweifelt werden. Es fragt sich nun aber, wie liegen die Verhältnisse in der gerichtsärztlichen Praxis?

Da das Zustandekommen resp. Ausbleiben der Hämolyse das ausschlaggebende Moment für die Beurteilung der Reaktion darstellt, so kam es zunächst darauf an, dieses für sich allein unter den Verhältnissen der Praxis eingehend zu studieren. Neisser und Sachs haben in ihrer ersten Arbeit (Berliner klin. Wochenschr. 1905, Nr. 44) ein künstliches hämolytisches System vorgeschlagen, d. h. als Ambozeptor das Serum eines mit Rinderblut (gleichzeitig auf Hammelblut wirkend) vorbehandelten Kaninchens, als Komplement normales Meerschweinchenserum, als Blutkörperchen Hammelblut.

Wohl mit Rücksicht auf die Umständlichkeit dieser Versuchsanordnung haben sie dann in ihrer zweiten Arbeit (Berliner klin. Wochenschrift 1906, Nr. 3) eine Vereinfachung der Methode angegeben, die sie dadurch erzielten, daß sie als hämolytisches Serum normales Serum, das also gleichzeitig hämolytischen Ambozeptor und Komplement enthält, benutzten. Es wurde von diesen Autoren das im normalen Kaninchenserum enthaltene Hämolysin für Hammelblut empfohlen.

Bei seinen Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der von Neisser und Sachs angegebenen Methoden machte Uhlenhuth die Beobachtung, daß die Extrakte zahlreicher Stoffe, wie sie in der Praxis dem Sachverständigen zur Untersuchung vorgelegt werden, in das natürliche hämolytische System eingefügt, eine totale Ablenkung zeigten, so z. B. Auslaugungen von Säcken (Jute), Fußlappen, wollenen Strümpfen, Leinwand, Hosen, Filzhüten, Jacketts usw., ferner von Hanfstaub, Pappe, Erde, Kies, Holzrinde, Heu, Stroh, Brot, Leder, Federn, verschiedenen Haaren, Urin, Pepton, Peptonbouillon, Tuberkulin; verschiedene unverdünnte Sera bewirkten ebenfalls komplette Ablenkung. Nur durch Erhöhung der hämolytischen Dosis von Kaninchenserum, oftmals um das 10fache, konnte die hemmende Wirkung aufgehoben werden.

Unverdünnter Urin zeigte selbst bei diesem starken hämolytischen System (1,0 ccm normales Kaninchenserum) absolute Ablenkung; durch Verdünnung des Urins konnte die ablenkende Wirkung beseitigt werden.

Welcher Art diese ablenkenden Stoffe sind, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen; jedenfalls ist sicher, daß sie weder durch Kochen zugrunde gehen (Uhlenhuth, Neisser und Sachs) noch durch Filtration mittels Berkefeldscher Kerzen beseitigt werden können (Uhlenhuth).

Weit besser waren die Resultate, die Uhlenhuth in Parallelversuchen bei Anwendung von Meerschweinchenkomplement und spezifisch erzeugtem Ambozeptor erhielt. Hierbei ergab sich,

daß eine große Reihe der oben genannten für Kaninchenserum ablenkenden Stoffe nicht mehr ablenkend wirkte, immerhin zeigten aber auch diesem System gegenüber Wolle, Fußlappen, Leder noch eine ablenkende Wirkung. Diese ließ sich zum Teil durch Erhöhung der Komplementmenge beseitigen. Aber selbst bei erheblichen Komplementmengen (von 0,3 ccm Meerschweinchenserum, eine Dosis, welche an sich schon 1,0 ccm Hammelblut auflöst) und erhöhtem Ambozeptorgehalt konnte Uhlenhuth die ablenkende Wirkung von unverdünntem Urin, von Peptonlösung und Tuberkulin nicht beseitigen. In diesen Fällen konnte er ebenfalls nur durch Verdünnung der betreffenden Flüssigkeiten zum Ziele kommen.

Für die Praxis erscheint jedoch die Verdünnung häufig nicht anwendbar, da, wenn nur ein kleiner Blutfleck vorliegt, der an sich nur einen ganz schwachen Eiweißauszug liefert, eine weitere Verdünnung den positiven Ausfall der Reaktion in Frage stellen könnte. Man wird daher in erster Linie ein kräftiges hämolytisches System wählen müssen. Als solches ist nach unseren Untersuchungen — und Neisser und Sachs stimmen darin mit uns überein — das normale Kaninchenserum für die forensische Praxis unbrauchbar. Auch kann die Verwendung normaler Hämolysine insofern zu Mißständen führen, als eine getrennte Dosierung von Ambozeptor und Komplement nicht möglich ist. Es ist daher unter allen Umständen die Anwendung eines künstlichen Systems, welches viel wirksamer und leichter dosierbar ist, zu empfehlen. Jedoch muß in jedem konkreten Falle eine genaue Einstellung des hämolytischen Systems auf die aus dem betreffenden Corpus delicti ausgelaugte Flüssigkeit — zunächst ohne Antiserumzusatz — vorgenommen werden. Ist das hämolytische System für den konkreten Fall genau eingestellt, so wird man bei Interferenz der fraglichen aus dem betreffenden Material hergestellten Blutlösung und Zusatz des betreffenden Antiserums brauchbare Resultate erhalten.

Es kommt nunmehr wieder auf die Konzentration der zu untersuchenden Blutlösung und den Titer resp. die Menge des zuzufügenden Antiserums an; beide Faktoren müssen wiederum in richtigem Verhältnis zu der Stärke des hämolytischen Systems stehen, um einen optimalen Ausschlag der Reaktion zu erzielen. Ein Komplement- oder Ambozeptorüberschuß stört den Ausfall der Reaktion. Die zu untersuchende Blutlösung und das zugehörige Antiserum müssen eine so feste Bindung eingehen, daß sie durch das hämolytische System — sozusagen — nicht „gesprengt“ oder doch so „gelockert“ werden, daß nachträglich eine totale oder partielle Hämolyse erfolgt. Es kommen also bei diesem Verfahren zahlreiche, sehr variable Faktoren in Betracht, die — jeder für sich — einer besonderen Prüfung bedürfen, ehe man zur Untersuchung des praktischen Falles übergehen kann.

Die Neisser-Sachssche Methode dürfte etwa in folgender Weise auszuführen sein:

Als Vorversuch würde zuerst die genaue Einstellung des zur Verwendung kommenden hämolytischen Systems auszuführen sein; es besteht dasselbe, wie bereits erwähnt, aus der Kombination von Hammelblut, inaktiviertem vom Kaninchen gewonnenem Immunserum für Hammelblut (Ambozeptor) und von aktivem Meerschweinchenserum (Komplement).

Die Hammelblutlösung stellen wir uns in der Weise her, daß wir einem Hammel aus der gestauten Halsvene etwa 10 ccm Blut ent-

ziehen und dasselbe sofort in einer sterilisierten kleinen Flasche oder weiten Röhrchen ungefähr 10 Minuten lang mit Glaskugeln zwecks Defibrinierung schütteln. Eine genau abgemessene Menge des defibrinierten Blutes — gewöhnlich genügen 5 ccm — wird dann beliebig mit steriler physiologischer (0,85 %) Kochsalzlösung verdünnt, gut durchgeschüttelt und 15—30 Minuten zentrifugiert. Darauf wird die aus Serum und Kochsalzlösung bestehende Flüssigkeit von der den Boden der Zentrifugenröhrchen bedeckenden roten Blutkörperchenschicht vorsichtig abgegossen. Ein etwa zurückgebliebener Flüssigkeitsrest wird am besten von der Wand des Glases mit Fließpapier abgesaugt; dann wird der Bodensatz nochmals mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, hierauf wiederum zentrifugiert und von der darüberstehenden Flüssigkeit befreit. Nach der dritten Waschung werden die roten Blutkörperchen mit 0,85 %iger Kochsalzlösung bis zu einer 5 %igen Aufschwemmung verdünnt. Haben wir beispielsweise 5 ccm Blut gewaschen, so werden die Blutkörperchen mit Kochsalzlösung in einem Blutzylinder bis auf 100 ccm aufgefüllt. Von dieser Aufschwemmung, die auf Eis aufbewahrt bis zum nächsten Tage noch brauchbar ist, dient 1 ccm als Indikator.

Die Gewinnung des Ambozeptorserums geschieht in analoger Weise wie die des Antiserums, nur mit dem Unterschied, daß wir statt Hammelserum etwa 2—5 ccm einer 5 %igen Aufschwemmung von gewaschenen Hammelblutkörperchen (oder Rinderblut) benutzen und letzteres einem Kaninchen intravenös oder intraperitoneal injizieren. Nach wenigen Injektionen erhält man meist ein hochwirksames Hammel- resp. Rinderhämolysin, das vor dem Gebrauch zu inaktivieren ist. (Erwärmen auf 56° C ½ Stunde.)

Das als Komplement dienende frische (aktive) Meerschweinchenserum wird jedesmal kurz vor dem Versuch durch Entbluten eines Meerschweinchens gewonnen. Das in einem Zentrifugenröhrchen aufgefangene Blut wird nach der Gerinnung und nach erfolgter Lösung des Blutkuchens zentrifugiert und hierauf das klare Serum abgegossen.

Die Einstellung des hämolytischen Systems beginnt mit der Titerbestimmung des Ambozeptors. Zu je 1 ccm der 5 %igen Hammelblutaufschwemmung wird je 0,1 ccm Meerschweinchenserum hinzugesetzt und mit absteigenden Mengen des Ambozeptors gemischt. Durch Auffüllen mit physiologischer Kochsalzlösung werden dann in allen Röhrchen gleiche Volumina hergestellt und die Röhrchen nach Durchschütteln eine Stunde lang in den Brutschrank bei 37° C gesetzt. Zeigt sich z. B.. daß die kleinste, eben noch komplett lösende Dosis des Ambozeptors 0,0005 beträgt, so empfiehlt es sich erfahrungsgemäß, für weitere Versuche die doppelte Dosis, also in unserem Falle 0,001 zu wählen.

Für die Reaktion erforderlich sind: 1. kleine Reagenzgläschen (von 0,9—1,0 cm Weite) resp. auch große gewöhnliche Reagenzgläschen, 2. Meßpipetten in Hundertstel Kubikzentimeter geteilt (Inhalt 1,0 cm) und in Zehntel Kubikzentimeter geteilt (Inhalt 1,0 ccm und 10 ccm).

Die Einstellung des Ambozeptors ist aus folgender Tabelle 3 ersichtlich:

(Siehe Tabelle 3 pag. 76.)

Für die so ermittelte Testdosis (0,001) des Ambozeptors wird nunmehr die Komplementmenge bestimmt. Um dieselbe genau abmessen zu können, empfiehlt es sich, eine Verdünnung mit 0,85 %iger Kochsalzlösung 1:10 herzustellen. Findet man hierbei, daß die kleinste, eben noch komplett lösende Dosis 0,05 beträgt, so erweist es sich auch hier

als zweckmäßig, die doppelte Dosis als Titer für die weiteren Versuche zu verwenden, also 0,1 ccm. Die Einstellung des Komplements veranschaulicht Tabelle 4.

Tabelle 3. Einstellung des Ambozeptors:

5 % Hammelblutlösung	Komplement	Ambozeptor (inaktiviert)	Kochsalzlös. 0,85 % zum Auffüllen auf gleiche Vol.	Befund
1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm = 1 ccm d. Lösg. 1 : 10	—	kompl. Häm.
„	„	0,05 „ = 1/2 „ „ „ 1 : 10	1/2 ccm	do. do.
„	„	0,025 „ = 1/4 „ „ „ 1 : 10	3/4 „	do. do.
„	„	0,01 „ = 1/10 „ „ „ 1 : 10	9/10 „	do. do.
„	„	0,005 „ = 1/2 „ „ „ 1 : 100	1/2 „	do. do.
„	„	0,0025 „ = 1/4 „ „ „ 1 : 100	3/4 „	do. do.
„	„	0,001 „ = 1/10 „ „ „ 1 : 100	9/10 „	do. do.
„	„	0,0005 „ = 1/2 „ „ „ 1 : 1000	1/2 „	do. do.
„	„	0,00025 „ = 1/4 „ „ „ 1 : 1000	3/4 „	fast do. do.
„	„	0,0001 „ = 1/10 „ „ „ 1 : 1000	9/10 „	mäß. Hämol.
„	—	0,1 „ = 1 „ „ „ 1 : 10	—	keine do.

(Kochsalzlös. 0,85 % zum Auffüllen auf gleiche Vol.: 1 Std. Brutschrank bei 37 ° C.)

Das auf Grund der Titerbestimmung zu verwendende System wäre demnach:

1 ccm 5 %ige Hammelblutlösung,
0,001 ccm Ambozeptor = 0,1 ccm des 100fach verdünnten Hammelhämolysinserums,
0,1 ccm Meerschweinchenkomplement.

Tabelle 4. Einstellung des Komplements:

5 %ige Hammelblutlösung	Komplement (Verdünnung 1 : 10)	Ambozeptor (Testdosis 0,001 ccm)	Kochsalzlösg. 0,85 % zum Auffüllen auf gleiche Vol.	Befund
1 ccm	0,1 ccm = 1 ccm d. Verdg. v. 1 : 10	0,1 ccm einer Verdünnung von 1 : 100	—	kompl. Häm.
„	0,09 „ = 0,9 „ do. do.	do. do.	0,1	do. do.
„	0,08 „ = 0,8 „ do. do.	do. do.	0,2	do. do.
„	0,07 „ = 0,7 „ do. do.	do. do.	0,3	do. do.
„	0,06 „ = 0,6 „ do. do.	do. do.	0,4	do. do.
„	0,05 „ = 0,5 „ do. do.	do. do.	0,5	do. do.
„	0,04 „ = 0,4 „ do. do.	do. do.	0,6	fast do. do.
„	0,03 „ = 0,3 „ do. do.	do. do.	0,7	mäßige do.
„	0,02 „ = 0,2 „ do. do.	do. do.	0,8	do. do.
„	0,01 „ = 0,1 „ do. do.	do. do.	0,9	wenig do.
„	—	do. do.	1,0	keine do.

(1 Stunde Brutschrank bei 37 ° C.)

Das für die Eiweißdifferenzierung in Frage kommende kurz vor jedem Versuch inaktivierte Antiserum darf nicht in beliebiger Menge verwandt werden, da ein Überschuß desselben oft schon an und für sich antikomplementär wirken kann. Außerdem soll hierdurch auch nach den Angaben von Moreschi, Neisser und Sachs und Liefmann gelegentlich die antihämolytische Wirkung verhindert werden.

Es muß daher die für das Ablenkungsverfahren geeignete Dosis des Antiserums genau bestimmt werden. Während man sich bei der Präzipitinmethode zur Titerbestimmung verschiedene Verdünnungen des homologen Serums herstellt und gewöhnlich eine gleiche unverdünnte Menge (0,1 ccm) Antiserum zusetzt, ist es bei der Neisser-Sachsschen Methode aus den oben genannten Gründen notwendig, absteigende Mengen des Antiserums der homologen, verdünnten inaktivierten Antigenlösung mit der Testdosis des Komplements zuzusetzen und gleichzeitig eine Kontrollreihe ohne Antigen anzusetzen.

Man muß deshalb zunächst mit jedem Antiserum einen Vorversuch anstellen, indem man das Antiserum in abgestuften Mengen einmal allein, gleichzeitig in einer Parallelreihe mit einer bestimmten gleichbleibenden Menge des Antigens auf antikomplementäre Wirkung prüft.

Was die zu verwendende Antiserummenge anlangt, so muß die für die forensische Praxis geltende Forderung maßgebend sein, daß man mit der Methode mindestens $^1/_{10000}$ ccm des homologen Blutserums nachweisen kann. Man verwendet daher $^1/_{10000}$ ccm Blutserum als Antigenmenge und zwar zweckmäßig in Form von 0,2 einer 2000fachen Serumverdünnung. Da die meisten Antisera erfahrungsgemäß in geringeren Mengen als 0,01 ccm eine vollständige Komplementbindung nicht mehr geben, genügt es, die 10fache Verdünnung des Antiserums (1:10) für den Versuch heranzuziehen. Ein vollständiges Versuchsprotokoll — wie es der Arbeit von Neisser und Sachs entnommen ist — möge als Beispiel dienen.

Als System würde das eben angegebene dienen. Zur Einstellung gelangt ein Serum, welches von Kaninchen durch Vorbehandlung mit Menschenserum gewonnen ist. Es werden zwei Versuchsreihen angesetzt.

In Reihe A werden gemischt absteigende Mengen des Antiserums + 0,2 ccm 2000fach verdünnten Menschenserums + 0,1 ccm Meerschweinchenserum. Nach 1stündigem Aufenthalt im Brutschrank (37 °) erfolgt Zusatz von je 1,0 ccm 5%igen Hammelblutes + je 0,1 ccm 100fach verdünnten Ambozeptorserums.

In Reihe B (Kontrolle) werden gemischt absteigende Mengen Antiserums + 0,2 ccm physiologischer NaCllösung + je 0,1 ccm Meerschweinchenserum. Nach 1stündigem Aufenthalt bei 37 ° C erfolgt Zusatz von 1,0 ccm 5%igem Hammelblut + je 0,1 ccm 100fach verdünnten Ambozeptorserums.

Das Versuchsergebnis zeigt folgende Tabelle.

Menge des 10fach verdünnten Antiserum in ccm	Eingetretene Hämolyse	
	Reihe A	Reihe B
1,0	Spürchen	komplett
0,75	Spürchen	
0,5	0	
0,35	0	
0,25	0	
0,15	Spur	
0,1	wenig	
—	komplett	

Die Tabelle zeigt, daß in diesem Fall das Antiserum an und für sich die Hämolyse nicht hemmt (Reihe B). Aus Reihe A ersieht man, daß die Verwendung der größeren Antiserumdosen zu vermeiden ist, da

Über die anzulegenden Kontrollen gibt folgende Tabelle Aufschluß:

Versuch	Kontrolle I	Kontrolle II	Kontrolle III	Kontrolle IV	Kontrolle V	Kontrolle VI
Kompl.	Kompl.	Kompl.	Kompl.	Kompl.	Kompl.	Kompl.
Untersuchungsflüssigkeit (Menschenblut) ?	Menschenblutlösung	Rinderblutlösung	Schweineblutlösung	physiolog. Kochsalzlösg.	physiolog. Kochsalzlösg.	Untersuch.-Flüssigkeit
Menschen-Antiserum	Menschen-Antiserum	Menschen-Antiserum	Menschen-Antiserum	Menschen-Antiserum	—	—
1 Stunde bei 37° C						
Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor
Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut
1 Stunden bei 37° C						

Kontrolle VII	KontrolleVIII	Kontrolle IX	Kontrolle X	Kontolle XI	Konrrolle XII	KontrolleXIII
Kompl.	Kompl.	Kompl.	Kompl.	—	—	—
Untersuch.-Flüssigkeit (gekocht)	Substrat-*) extrakt	Substrat-extrakt	Untersuch.-Flüssigkeit	physiolog. Kochsalzlösg.	physiolog. Kochsalzlösg.	Untersuch.-Flüssigkeit
—	Menschen-antiserum	—	normales Kaninchen-Serum	—	—	—
1 Stunde bei 37° C						
Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	Ambozeptor	—	—
Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut	Hammelblut
1 Stunde bei 37° C						

*) Unter Substratextrakt verstehen wir einen Auszug aus dem Material, auf dem das Blut angetrocknet ist.

die Komplementbindung dann nicht vollständig ist. Die normale Dosis, welche noch zu vollständiger Komplementbindung ausreicht, liegt zwischen 0,025 ccm und 0,015 ccm. Um die Empfindlichkeit der Reaktion nicht unnötig zu erhöhen, wählt man als Testdosis für weitere Versuche einen nicht zu großen Überschuß der minimalen noch reagierenden Menge, in diesem Falle 0,03, die man, um die Flüssigkeitsmenge nicht über Gebühr zu vermehren, als 0,15 ccm der 5fachen Verdünnung für die weiteren Versuche heranziehen muß. Die meisten Antisera, die Sachs untersuchte, bewirkten im Verein mit $^1/_{10000}$ ccm des homologen Serums in der Menge von 0,01—0,15 eine vollständige Komplementbindung, so daß sie in der Testdosis nur 0,2 ccm der 10fachen Verdünnung zur Anwendung gelangen konnten.

Während das Antiserum durch diese einmalige Bestimmung für alle weiteren Untersuchungen eingestellt ist — doch erscheint eine öftere Kontrolle wünschenswert — so muß vor jedem Versuch stets erst die komplettierende Dosis eines frischen Meerschweinchenserums für einen Ambozeptor von bekanntem Titer eingestellt werden.

Nunmehr kann man erst zu dem eigentlichen Komplementbindungsversuch schreiten. Er wird etwa in folgender Weise ausgeführt: Zu 1 ccm der 1:1000 bis 1:10000 (Ausfall der Salpetersäurekochprobe siehe oben) verdünnten, auf Menschenblut zu untersuchenden, inaktivierten Lösung wird die festgestellte Menge frischen Meerschweinchenserums und die Testdosis des kurz vor jedem Versuch inaktivierten Menschenantiserums zugesetzt. Das Gemisch wird tüchtig durchgeschüttelt und wird eine Stunde in den Brutschrank (37° C) gestellt, sodann erfolgt der Zusatz von 1 ccm 5%iger Hammelblutlösung und der Testdosis des Ambozeptor. Die gutgemischte Lösung kommt dann abermals etwa eine Stunde in den Brutschrank und kann bereits jetzt (Uhlenhuth) oder bei folgendem Aufenthalt im Eisschrank am nächsten Morgen (Ehrlich) betrachtet werden. Um die Befunde besser beurteilen zu können, ist es notwendig, die in dem Brutschrank befindlichen Röhrchen von Zeit zu Zeit zu beobachten. In dem Augenblick, wo die Kontrollen vollständige Hämolyse zeigten, wird der Befund in dem übrigen Röhrchen festgestellt. Es wird das meistens nach einer Stunde der Fall sein. Hat man die Blutkörperchen vor dem Versuch „sensibilisiert", d. h. hat man den Ambozeptor auf die Blutkörperchen bereits durch halbstündigen Aufenthalt im Brutschrank einwirken lassen, so verläuft die Reaktion viel schneller.

Um alle Fehlerquellen nach Möglichkeit auszuschließen, sind bei der Komplementbindungsmethode zahlreiche Kontrollen notwendig (siehe Tabelle pag. 78).

Ähnlich wie man bei der Präzipitinmethode mit einigen Tropfen Untersuchungsflüssigkeit auskommen kann, läßt sich auch die Differenzierung mit Hilfe der Komplementbindungsmethode bei Verwendung kleinster Flüssigkeitsmengen ausführen, wenn man nach Carnwath*) in folgender Weise verfährt:

Ein gut gereinigtes über der Flamme sterilisiertes, etwa 16 cm langes Röhrchen (2 mm Durchmesser) wird in der Mitte zu einer dünnen Kapillare ausgezogen und in der Mitte getrennt. (Fig. 11). Am Übergang in die etwa 6 cm lange Kapillare wird das Röhrchen stumpfwinkelig abgebogen, etwa 2 cm vom anderen Ende wird das Röhrchen zu einem Hals ausgezogen (bei *H*).

*) Siehe Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundsamte, Bd. 27.

Um bei den in Frage kommenden kleinen Flüssigkeitsmengen genau quantitativ arbeiten zu können, müssen die einzelnen Komponenten, die in demselben Verhältnis wie bei der gewöhnlichen Methode der Komplementablenkung zugesetzt werden sollen, so verdünnt werden, daß man immer gleiche Mengen nehmen kann. Würde man beispielsweise folgendes System:

Fig. 11.

1 ccm Untersuchungsflüssigkeit, 0,1 ccm präzipitierendes Serum, 0,05 ccm Komplement, 0,001 ccm Ambozeptor (hämolysierender), 1 ccm 5%ige Blutlösung benutzen wollen, so würde man bei Anwendung gleicher Mengen das präzipitierende Serum 1:10, das Komplement 1:20 und den Ambozeptor 1:1000 verdünnen müssen. Wieviel nun von den einzelnen Flüssigkeiten gewonnen wird, ist vollkommen ohne Bedeutung, nur müssen immer gleiche Mengen zur Verwendung kommen. Zu diesem Zwecke macht man mit einem Fettstift ein Zeichen auf der Kapillare (bei *f*). Ist das geschehen, so saugt man bis zur Marke die Untersuchungsflüssigkeit auf und bringt sie auf ein steriles Uhrschälchen, dann wird mit demselben Röhrchen das 1:10 verdünnte präzipitierende Serum bis zur Marke aufgesaugt und ebenfalls in das Uhrschälchen gebracht und endlich wird das verdünnte Komplement in analoger Weise zugesetzt. Durch wiederholtes Aufsaugen in das Röhrchen werden die einzelnen Flüssigkeiten gut durchgemischt. Nunmehr wird das Gemisch in das Röhrchen aufgesaugt. Damit die Flüssigkeit nicht aus dem Röhrchen entweichen kann, ist die stumpfwinklige Abbiegung angebracht. Das Röhrchen wird dann so gelegt, daß es auf dem Winkelscheitel ruht und die beiden Schenkel nach oben stehen. In einfacher Weise kann man hierzu einen gewöhnlichen Karton aus Pappe benutzen. Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C wird die Flüssigkeit wieder aus dem Röhrchen in ein Uhrschälchen gebracht und in der oben angegebenen Weise mit 1:1000 verdünntem Ambozeptor und 5%iger Blutlösung sorgfältigst gemischt. Nachdem die Mischung wieder in das Röhrchen aufgesaugt ist, wird dasselbe an dem zu einem Halse ausgezogenen Abschnitte zugeschmolzen, der Inhalt darf hierbei nicht erwärmt werden. Beim Erkalten des zugeschmolzenen Endes wird die in diesem Abschnitte des Röhrchens befindliche Luft ebenfalls abgekühlt und so stark kontrahiert, daß die auch zum Teil noch in der Kapillare befindliche Flüssigkeit vollständig in das Röhrchen gesaugt wird. Jetzt wird das Röhrchen umgedreht, an dem Absatz der Kapillare zugeschmolzen und in einem kleinen Gestell zuerst eine Stunde in den Brutschrank und nachher zwei Stunden in den Eisschrank gestellt.

Nach Weidanz wird die Eiweißdifferenzierung mit Hilfe der Komplementbindungsmethode bei Anwendung kleinster Flüssigkeitsmengen unter 0,2 ccm in folgender Weise ausgeführt: Ähnlich, wie oben angegeben, werden auch hier die für die Reaktion in Frage kommenden Flüssigkeiten so verdünnt, daß bei Benutzung gleicher Mengen das gewünschte Verhältnis der Flüssigkeiten untereinander dasselbe bleibt. Die Verdünnungen werden hier mit Hilfe von Thermometerpipetten (Fig. 12) (0,1 in 100 Teile) in kurzen, gut verschließbaren Röhren ausgeführt. Um Verwechselungen der Röhrchen und Pipetten zu vermeiden, dient ein mit nummerierten

Löchern und Rinnen versehener Glasblock. Die vor den Löchern und zwischen den Rinnen befindlichen Flächen des Blockes sind mattiert, um in bequemer Weise den Inhalt und die Verdünnungen der einzelnen Gläschen bezeichnen zu können. Die Untersuchungsflüssigkeit, sowie das verdünnte Antiserum und der verdünnte Ambozeptor werden inaktiviert. Soll die Inaktivierung in einem Wasserbade von 56° C vorgenommen werden, so ist es praktisch, die kleinen Gläschen in Reagenzröhrchen von 1,6 cm Durchmesser, deren Boden mit Watte bedeckt ist, zu stellen und letztere dann in das Wasserbad zu hängen.

Von der Untersuchungsflüssigkeit, dem verdünnten Komplement und Antiserum werden mit je einer besonderen sterilen Thermometerpipette gleiche Mengen, z. B. 0,05 ccm, in ein neues kleines Gläschen gebracht und gut gemischt. Dieses geschieht zweckmäßig durch wiederholtes Aufsaugen und Ausblasen mittels einer Kapillarpipette (Fig. 7, pag. 48). Sind in dieser Weise auch die notwendigen Kontrollflüssigkeiten, gemischt, so werden die einzelnen Gemische mittels der dazu gehörigen Kapillarpipetten in kleine, an einem Ende zugeschmolzene Röhrchen von etwa 6 cm Länge und 2 mm Durchmesser gebracht. Die Röhrchen stellt man sich aus gut gereinigtem und sterilisiertem Glasrohr jedesmal selbst her. Die so beschickten Röhrchen werden dann in ein kleines Carnwathsches

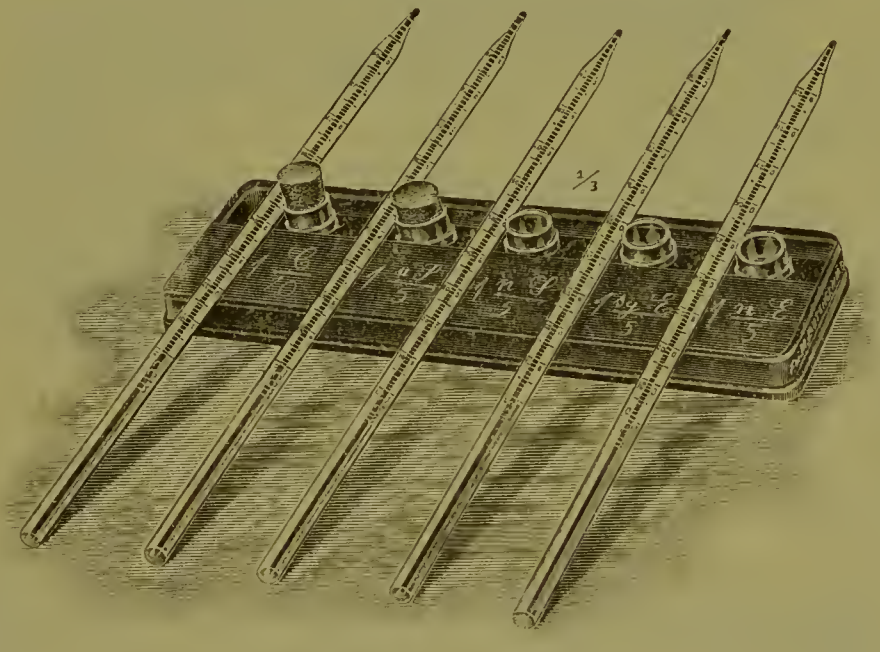


Fig. 12. Glasblock mit Pipetten und Röhrchen.

Metallgestell (Fig. 10, pag. 53) gesetzt. Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank werden die in den Röhrchen des Gestelles befindlichen Flüssigkeiten mit den entsprechenden Kapillarpipetten in die früheren Gläschen zurückgebracht, gleiche Mengen, also in unserem Falle je 0,05 ccm, des 1:1000 verdünnten Ambozeptors sowie der 5%igen Blutaufschwemmung hinzugefügt und nach sorgfältiger Mischung wieder in die früheren Röhrchen des Gestelles getan, die dann wieder auf eine Stunde in den Brutschrank gestellt werden.

Stehen für den Versuch mehr wie 0,2 ccm Untersuchungsflüssigkeit zur Verfügung, so können sowohl die Verdünnungen der einzelnen Flüssigkeiten, sowie auch die Mischungen mit Hilfe der entsprechenden Thermometerpipetten in Röhrchen von 6 cm Länge und 0,5 cm Durchmesser direkt vorgenommen werden. Die einzelnen Röhrchen werden zweckmäßig in ein kleines Metallgestell (Fig. 13), welches für 6—10 Röhrchen

Platz hat, eingestellt. Nach einstündigem Aufenthalte im Brutschrank werden dann zu den mit den einzelnen Mischungen beschickten Röhrchen ebenfalls mit je einer sterilen Thermometerpipette gleiche Mengen Ambozeptor und Hammelblutaufschwemmung zugesetzt. Durch wiederholtes Aufsaugen in die entsprechende Pipette werden die einzelnen Flüssigkeiten gut durchmischt. Hierauf werden die so beschickten Röhrchen eine Stunde in den Brutschrank gestellt.

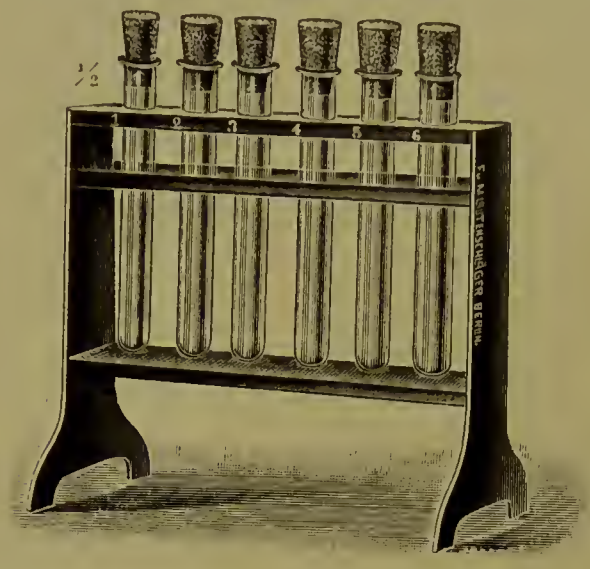


Fig. 13. Reagenzglasgestell nach Weidanz.

Um bei der Komplementbindungsmethode den Eintritt und Verlauf der Reaktion in den einzelnen Röhrchen bei konstanter Temperatur fortwährend in bequemer Weise vom Arbeitsplatz aus beobachten zu können, bedienen wir uns zweckmäßig des von Weidanz für Hämolyseversuche angegebenen, durchsichtigen Brutschrankes (Fig. 14). Der Brutschrank (*I*) besteht aus einem doppelwandigen Wasserbehälter aus Metall, welcher in Gestalt eines Rahmens den Innenraum umgibt. Dieser wird an der Vorder- und Rückseite durch je zwei Glasscheiben abgeschlossen, die äußeren Glasscheiben sind zum Auswechseln. In den Innenraum führt eine Tube, durch die ein Thermometer (T_I) zur Kontrolle der Temperatur eingeführt ist. Die Regulierung derselben geschieht durch einen sehr empfindlichen Mikrothermoregulator (*RI*), der sich in einer Metallhülse des Wasserbades befindet und mittels eines massiven Metallrohres (*C*) mit dem Brenner (*A*) verbunden ist. Durch Tube *G* wird das Wasser in den Wasserraum gefüllt. Der Brutschrank befindet sich auf einem Gestell, an dem der Mikrobrenner (*A*) mit Glimmerzylinder angebracht und feuersicher mit dem Thermoregulator verbunden ist. Der Brutschrank ist ferner so eingerichtet, daß an denselben ein Wasserbad (*II*) zur Inaktivierung der einzelnen in Frage kommenden Flüssigkeiten angehängt werden kann. Durch einen Mikrothermoregulator (*RII*) und den Brenner *B*, die ebenfalls mittels eines Metallrohres (*D*) verbunden sind, wird eine konstante Temperatur von 56° C erreicht. Das Wasserbad besitzt zur Aufnahme der mit den zu inaktivierenden Flüssigkeiten gefüllten Reagenzgläser vier auswechselbare Metallplatten (*J*), welche je nach der Weite der verwendeten Gläser mit verschieden großen Löchern versehen sind. Damit die Röhrchen in dem Wasser bleiben und nicht hochgedrückt werden können, wird ein Klappdeckel (*H*) auf die Wattepfropfen der Gläser gelegt. Zur Kontrolle der Temperatur im Wasserbade dient ein Thermometer (T_{II}).

Um den Innenraum des Brutschranks, der sehr klein ist, möglichst auszunutzen, müssen die zum Versuche gebrauchten Reagenzgläser aus ihrem gewöhnlichen Holzgestell herausgenommen und mittels eines mit Löchern versehenen Metallsteges reihenförmig im Brutschrank aufgehängt werden. Der 35 cm lange Steg, der genau die Länge der gewöhnlichen großen hölzernen Reagenzglasgestelle hat, ist so eingerichtet, daß sich, wenn er auf die oberen Holzplatten des Gestells gelegt wird, die in ihm befindlichen Löcher genau mit denen der darunter liegenden Holzplatte decken. (Fig. 15.)

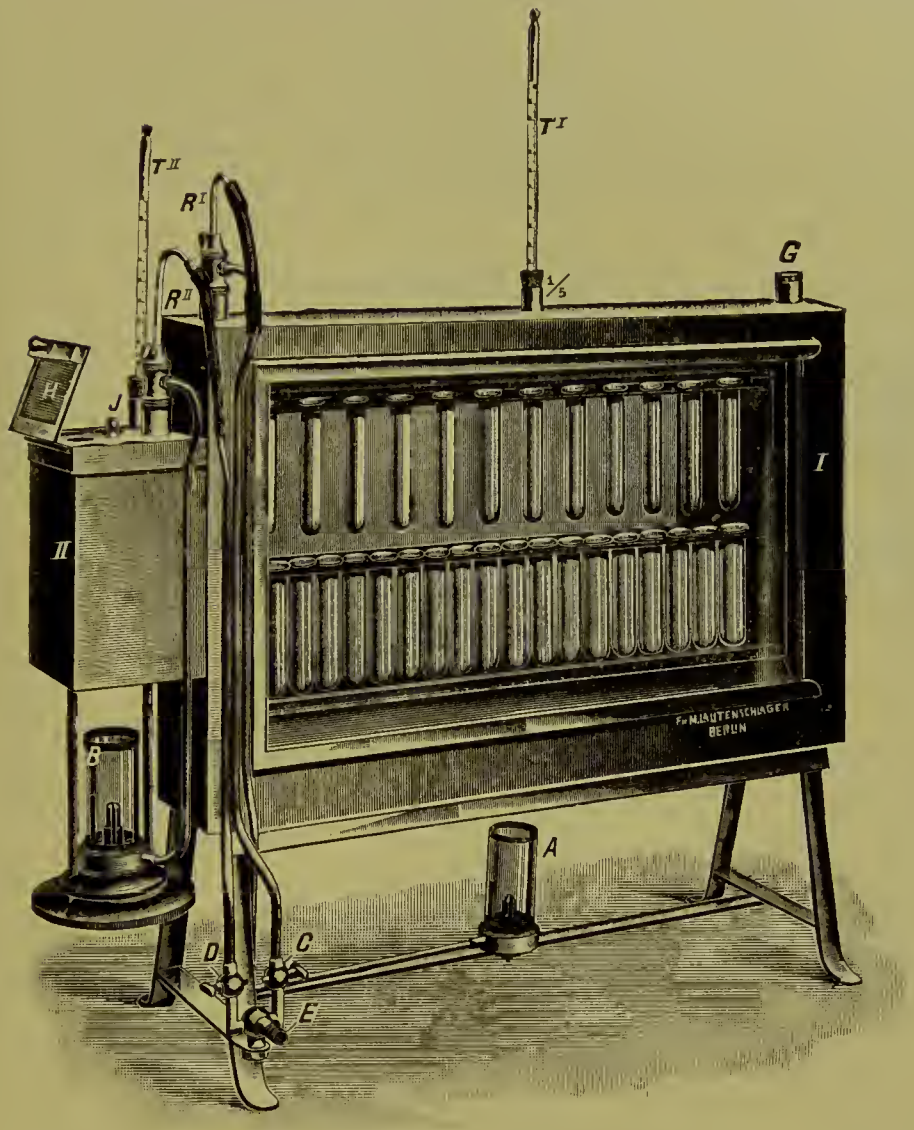


Fig. 14. Brutschrank für Hämolyse-Versuche nach WEIDANZ.

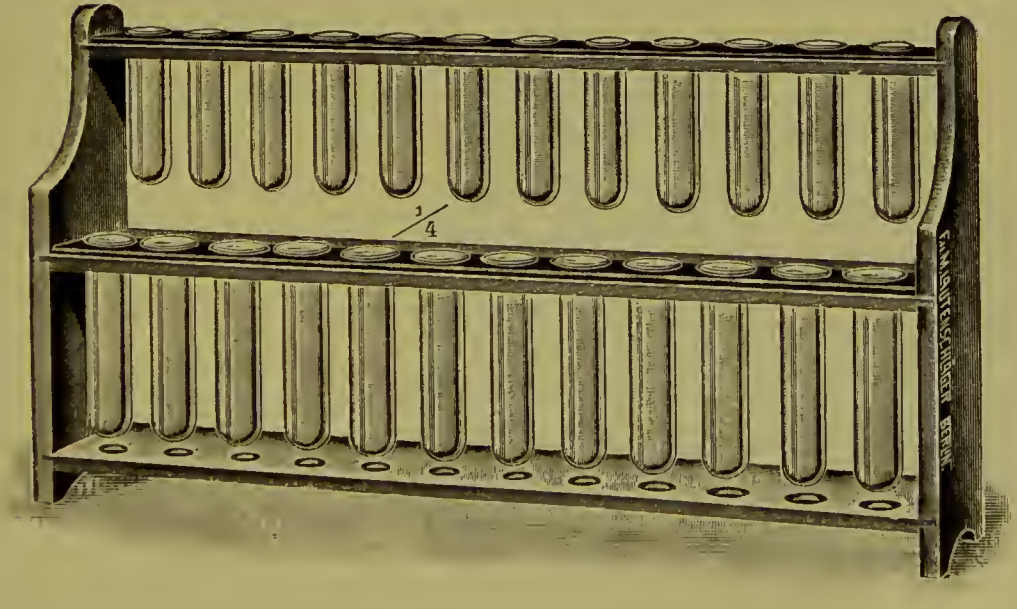


Fig. 15.

Es können also mit diesem Steg gleichzeitig 12 große Reagenzgläser in den Brutschrank gestellt werden. Kommen aber bei einem Versuch noch mehr Röhrchen zur Verwendung, so bedient man sich zweckmäßig eines Metallsteges, der eine knopfgabelähnliche Form hat. Hierdurch ist es möglich, die einzelnen Röhrchen unmittelbar aneinander zu schieben, so daß jetzt statt 12 18 Röhrchen Platz haben. Da nun aber bei den Komplementbindungsversuchen im höchsten Falle 6 ccm Flüssigkeit für das einzelne Röhrchen in Betracht kommen, so kann man recht gut mit viel kürzeren, etwa 6 cm langen Röhrchen auskommen. Bei Verwendung dieser Röhrchen lassen sich in dem Brutschrank bequem zwei Reihen untereinander aufhängen. Haben diese Röhrchen einen Durchmesser von 1,6 cm, so würden sich etwa 36 Stück in dem Brutschranke unterbringen lassen. Bei Benutzung von Röhrchen mit geringerem Durchmesser können natürlich entsprechend mehr davon untergebracht werden. Von diesen von Weidanz in Vorschlag gebrachten Röhrchen, die einen etwa 1,5 mm breiten nach außen umgebogenen Rand haben, werden vier verschiedene Sorten (1,6, 1,2, 0,9 und 0,6 cm Durchmesser) mit den dazugehörigen Metallstegen angefertigt. Bei Anwendung der mit Löchern versehenen Stege kann man die in einer Reihe aufgehängten Röhrchen mitsamt dem Steg in die Löcher des großen Reagenzglasgestelles hineinhängen. Bei Benutzung des knopfgabelförmigen Steges ist das bei den dicht nebeneinander hängenden Röhrchen nicht möglich. In diesem Falle bedienen wir uns eines Metallgestelles (Fig. 16), in das der Steg mit den Röhrchen so hineinpaßt, daß er weder vorwärts noch rückwärts, noch seitlich abgleiten kann. Außerdem lassen sich die hier vollkommen freihängenden Röhrchen ausgezeichnet beobachten.

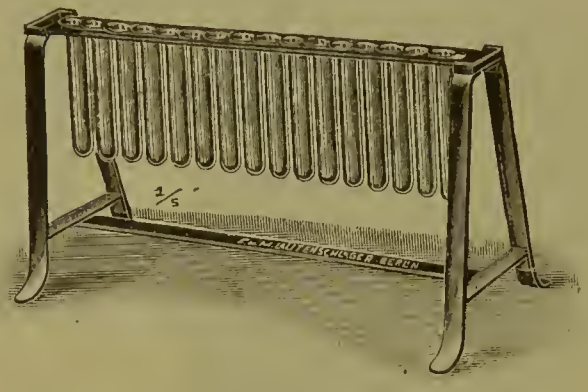


Fig. 16. Reagenzglasgestell nach Weidanz.

Um nicht bei einem größeren Hämolyse-Versuch für jede Röhrchenreihe ein besonderes Metallgestell zu benötigen, bedient man sich zweckmäßig eines treppenartigen Gestells (Fig. 17), auf dem neun Röhrchenreihen hintereinander Platz haben. Man kann auf diese Weise auf einem verhältnismäßig beschränkten Raum weit über 100 Röhrchen unterbringen. Eine genaue Beobachtung der dicht hintereinander hängenden Röhrchenreihen ist hierbei natürlich ausgeschlossen. Zu diesem Zwecke kann aber der die zu beobachtende Röhrchenreihe enthal-

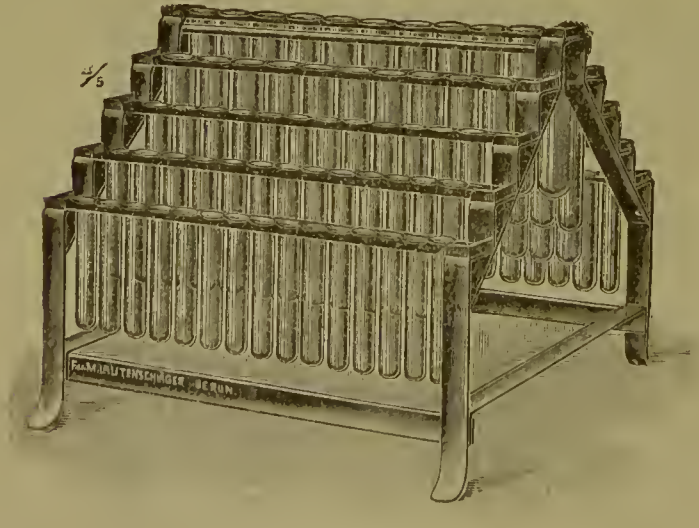


Fig. 17. Treppenförmiges Reagenzglasgestell nach Weidanz.

tende Steg leicht aus dem treppenförmigen Gestell herausgenommen und in das oben beschriebene Metallgestell gelegt werden. Der Brutschrank wird in zwei Größen angefertigt. Der kleinere Apparat hat nur Raum für eine Reihe der 6 cm langen Röhrchen. Außerdem ist sein Innenraum so eingerichtet, daß er für 2 Carnwathsche oder 2 Weidanzsche Reagenzglas-Gestelle Platz bietet. Diese werden benutzt, wie oben erwähnt, bei der Anwendung der Komplementbindungsmethode bei Verwendung kleinster Flüssigkeitsmengen.

Wir wollen nicht unterlassen auf eine Beobachtung hinzuweisen, die wir mehrere Male bei Anwendung der Komplementbinduugsmethode selbst gemacht haben und die wir auch bei unseren Mitarbeitern machen konnten. In zwei genau unter denselben Bedingungen mit dem gleichen Material angestellten Versuchsreihen konstatierten wir bisweilen in den entsprechenden Röhrchen einmal eine komplette Ablenkung, einmal eine totale Hämolyse. Diese rätselhafte Tatsache kann, da ein Versuchsfehler mit Sicherheit ausgeschlossen war, nur so erklärt werden, daß die betreffenden Reagenzgläschen eine ablenkende Substanz enthalten hatten, trotzdem stets für diese Arbeiten saubere und sterile Röhrchen benutzt werden. So außerordentlich empfindlich ist die Reaktion; um solche Fehlerquellen auszuschließen, ist zu fordern, **daß jeder Komplementbindungsversuch mehrere Male zu wiederholen ist.**

Läßt sich nun mit Hilfe der angeführten Kontrollen in jedem Falle ein sicherer Entscheid mittels der Komplementbindungsmethode treffen?

Diese Frage muß verneint werden. Es kann z. B. in der Praxis recht gut einmal vorkommen, daß Blutspuren mit einer ablenkenden Substanz oder dem Auszug einer solchen fein gemischt auf einer nicht ablenkenden Unterlage eingetrocknet sind und daß die geringe Blutspur eine stärkere Verdünnung nicht zuläßt. Kann auch durch die Verstärkung des hämolytischen Systems dann die ablenkende Substanz nicht paralysiert werden, so würde der Sachverständige in diesem Falle — selbst durch Kochen der Lösung — nicht entscheiden können, ob außer der nicht spezifischen Ablenkung noch eine spezifische vorhanden gewesen ist. Auch wäre er nicht imstande, bei einem an sich stark ablenkenden Urin, welcher geringe Blutspuren (Menstrualblut) enthält, so daß eine Verdünnung nicht angängig ist, mit Hilfe der Komplementbindung eine Entscheidung zu treffen. Wenn das auch recht seltene Fälle sein mögen, so muß doch darauf aufmerksam gemacht werden.

Die Präzipitinmethode gestattet in solchen Fällen einen sicheren Entscheid.

Es fragt sich nun, ob die Komplementbindung an sich in der Praxis besondere Vorteile vor der gewöhnlichen Präzipitinreaktion bietet. Es ist wohl richtig, daß man bei der Empfindlichkeit dieser Methode schwach wirksame Antisera und auch solche die opaleszieren (Neisser-Sachs) verwerten kann, Sera also, die Uhlenhuth für die Praxis vollkommen verwirft.

Die Klärung der Untersuchungsflüssigkeit, die von einigen Autoren nicht für nötig gehalten wird, ist unserer Ansicht nach jedoch erforderlich.

Was nun die Leistungsfähigkeit beider Methoden betrifft, so muß ohne weiteres zugegeben werden, daß die Neisser-Sachssche Methode in Verdünnungen, auch bei Anwendung weniger hochwertiger Antisera, in denen die gewöhnliche Präzipitinreaktion nur noch schwach sichtbare Präzipitate liefert, noch komplette Ablenkung zeigen kann. Eine feinere

Methode wie die Präzipitinmethode brauchen wir jedoch in der forensischen Praxis nicht.

Denn mit dem von Uhlenhuth verlangten Titer kann man noch $^1/_{20000}$ g Blut und weniger einwandfrei nachweisen. Bei seinen zahlreichen gerichtlichen Blutuntersuchungen ist Uhlenhuth bezüglich der Kleinheit der Blutflecke kaum in Verlegenheit geraten. Wenn man in solchen Fällen die ausgezeichnete Hauser-Carnwathsche Kapillarmethode anwendet, so wird man selbst noch weit kleinere Mengen mit Hilfe der Präzipitinmethode nachweisen können. So gelang es Hauser noch bei einer absoluten Blutmenge von $^1/_{200000}$ ccm, die er mit 4 cmm steril physiologischer Kochsalzlösung, d. h. 1:800 verdünnte, eine absolut sichere Präzipitinreaktion zu erhalten.

Gerade die von einzelnen Autoren immer wieder hervorgehobene größere Empfindlichkeit der Komplementbindungsmethode gegenüber der Präzipitinmethode ist ein Nachteil für die Praxis. E. Friedberger konnte zeigen, daß Schweiß von normalen Individuen, der in einem elektrischen Lichtbad direkt von der Haut gesammelt war, noch in einer Verdünnung von $^1/_{10000}$ bei Gegenwart des betreffenden Präzipitins eine antikomplementäre Wirkung entfaltete. Das Antiserum hatte allerdings den erstaunlichen Titer von 1:1000000000, d. h. 0,02 ccm des Antiserums ergab noch in einer Verdünnung von Menschenserum auf $^1/_{1000000000}$ vollständige Hemmung der Hämolyse. Wurde der Schweiß vorher mit artfremdem Serum gemischt, so trat gleichfalls bei Zusatz von Präzipitin die Hemmung der Hämolyse auf. Ohne Zusatz von Antiserum aber zeigte der Schweiß, einerlei, ob er mit artfremdem Serum gemischt war oder nicht, keinerlei Hemmung.

Da ein lange getragenes Hemd oder sonstiges Kleidungsstück sich naturgemäß stark mit Schweiß imprägnieren muß, so ist es wohl denkbar, daß ein aus einem derartigen stark durchgeschwitzten Kleidungsstück ausgelaugter Blutfleck die Reaktion auf Menscheneiweiß geben kann, ohne daß der Fleck aus Menschenblut zu bestehen braucht. So gelang in der Tat die Aufhebung der Hämolyse mit dem Waschwasser eines etwa markstückgroßen Stückchens aus einem nur einen Tag getragenen Wollstrumpf einer allerdings an Schweißfuß leidenden Person. Ebenso fiel die Reaktion mit dem Waschwasser eines mit Menschenschweiß getränkten und mit geringen Mengen von Hühnerblut versetzten Leinwandlappens positiv für Menschenblut aus. (Friedberger.)

Da mit Schweiß bis zu einer Verdünnung von $^1/_{10000}$ die typische Reaktion noch eintritt, wodurch Irrtümer bei der Beurteilung entstehen können, so empfiehlt es sich nach Friedberger keineswegs, Sera bzw. Quantitäten der einzelnen in Betracht kommenden Komponenten zu wählen, bei denen die Empfindlichkeit der Reaktion über die für den Nachweis einer Eiweißmenge von $^1/_{10000}$ erforderlichen Grenze hinausgeht. Es dürfen daher sehr hochwertige Sera nicht verwendet werden.

In diesen Fällen würde die Präzipitinreaktion keinen Ausschlag mehr gegeben haben, denn selbst sehr hochwertige Antisera geben mit menschlichem Schweiß versetzt keine Reaktion. Wir kommen also hier zu der prinzipiellen Frage, ob man allein bei positivem Ausfalle der Komplementablenkung und negativem Ausfalle der Präzipitinreaktion ein Urteil in der Praxis abgeben soll.

Es könnte dieser Fall z. B. eintreten bei der Untersuchung winzigster Blutflecken. Wie erwähnt, gelingt es bei Anwendung der gewöhnlichen Präzipitinreaktion bei Beobachtung der von uns gegebenen

Vorschriften mit hochwertigen Seris noch $^1/_{20000}$ g und mit der Hauser-Carnwathschen Kapillarmethode $^1/_{200000}$ g Bluteiweiß nachzuweisen, was praktisch vollkommen ausreicht. Bei noch kleineren Blutmengen wird natürlich die Präzipitinreaktion immer schwächer und schließlich ist man nicht mehr imstande, eine solche sicher zu erkennen. In solchen Fällen sieht man unter Umständen noch Hemmung der Hämolyse oder Ablenkung bei Anwendung der Komplementbindungsmethode. Ist nur eine Hemmung der Auflösung, nicht eine totale Ablenkung vorhanden, so ist unserer Ansicht nach in der forensischen Praxis ein positiver Ausfall nicht zu verzeichnen.

Wird man nun in solchen und ähnlichen Fällen bei negativem Ausfall der Präzipitinreaktion aber nachgewiesener Ablenkung ein Gutachten, von dem Leben und Tod unter Umständen abhängt, abgeben? Diese Frage müssen wir von unserem Standpunkte aus mit nein beantworten. Die große Kompliziertheit, die Unzahl der kaum noch übersehbaren Fehlerquellen macht diese Methode schon in der Hand des gewiegten Immunitätsforschers zu einer äußerst schwierig zu handhabenden.

Das wird jeder, auch der in alle Einzelheiten eingearbeitete Forscher zugeben; und aus eigener Erfahrung wissen wir, welche Zufälligkeiten oft die Beurteilung erschweren. Wir erinnern an den verschiedenen Ausfall ein und desselben Versuches. Von dem Gerichtsarzt und Chemiker vollends, der nicht dauernd mit dieser Methode arbeitet, kann unmöglich verlangt werden, daß er eine derartig diffizile Immunitätsreaktion völlig beherrscht, und daß er auf Grund dieser Methode allein auf seinen Eid ein folgenschweres Gutachten abgibt. Es wird sich ja leider auch in Zukunft nicht durchführen lassen, daß man die forensischen Blutuntersuchungen ausschließlich in besonderen Instituten vornimmt.

Aus diesen Ausführungen geht zur Genüge hervor, „daß die Neisser-Sachssche Methode besonders infolge der komplizierten Technik und ihrer übergroßen Empfindlichkeit an praktischer Brauchbarkeit jedenfalls hinter der Uhlenhuth-Wassermannschen zurücksteht". (H. Marx, Prakt. für gerichtl. Med., Berlin 1907.)

Auch Puppe kommt auf Grund seiner Erfahrungen zu dem Schluß, daß die gerichtlich-medizinische Bedeutung der Methode der Komplementablenkung keine erhebliche ist; vom wissenschaftlichen Standpunkt sei sie indes eine außerordentlich willkommene Bereicherung unserer Kenntnisse über die Faktoren, welche einerseits die Präzipitatbildung und andererseits die Hämolyse bedingen.

Wie Neisser und Sachs in ihren ersten Arbeiten selbst hervorhoben, soll ihre Methode nur eine Kontrolle und Ergänzung für die biologische Reaktion sein. Nach Vorschlag von Uhlenhuth ist in jedem forensischen Fall zunächst die gewöhnliche Präzipitinreaktion nach den bekannten Vorschriften auszuführen; ist die Reaktion positiv, so ist ja eine eigentliche Kontrolle überhaupt überflüssig, da Zweifel nicht entstehen können. Jedoch wird man dann zur Bestätigung die Neisser-Sachssche Reaktion heranziehen können, indem man das, was man vorher bereits als Präzipitatbildung notiert hat, in anderer Weise als Farbenreaktion zum schön demonstrablen Ausdruck bringt. Ist aber die gewöhnliche Präzipitinreaktion negativ, die Neisser-Sachssche Reaktion jedoch positiv, so ist in der Praxis,

wo es sich häufig um Leben und Tod eines Menschen handelt, auf den positiven Ausfall dieser Reaktion allein ein Urteil über die Provenienz des Blutes nicht abzugeben. (Uhlenhuth, Löffler u. a.)

Der quantitative Blutnachweis.

Versuche eines quantitativen Blutnachweises sind zuerst von Strassmann und Ziemke angestellt worden.

Die Bedeutung derartiger quantitativer Feststellungen von Blutmengen außerhalb des Körpers wird wesentlich sein für die Frage, ob Wunden bei Lebzeiten oder nach dem Tode entstanden waren, sowie dafür, ob ein Mord am Fundort der Leiche oder anderswo geschah. Nach Kockel würden insbesondere quantitative Bestimmungen des in der Umgebung einer Leiche befindlichen Blutes geeignet sein, Klarheit in jene oft fälschlicherweise als Ritualmorde bezeichneten Verbrechen zu bringen, die begangen sein sollen, um menschliches Blut für rituelle Zwecke zu gewinnen.

Strassmann und Ziemke haben zunächst versucht, für die Bestimmung der Menge des an Kleidungsstücken haftenden Blutes ein geeignetes Verfahren auszuarbeiten. Für frischere Blutspuren empfehlen die genannten Autoren die kolorimetrische Bestimmung, die ausgeführt wird, indem den blutbefleckten Geweben mit destilliertem Wasser oder gesättigter Boraxlösung der Blutfarbstoff entzogen wird. An der so erhaltenen Blutlösung wird mit dem Gowerschen Hämoglobinometer der Hämoglobingehalt bestimmt und daraus dann die ursprüngliche Blutmenge berechnet. Das hierbei sich ergebende Defizit betrug bei frischen Blutflecken höchstens 15 %, bei älteren ca. 30 % der tatsächlich vorhandenen Blutmenge. In der Praxis dagegen, wo über den ursprünglichen Hämoglobingehalt des Individuums nichts bekannt ist, wo derselbe z. B. bei Anämie bis 40 % herabgesetzt sein kann, würden die Resultate noch viel ungünstiger ausfallen. Neuerdings hat Leers mit Hilfe des von Sahli verbesserten Gowerschen Apparates durch die kolorimetrische Bestimmung des Blutfarbstoffes weit bessere Resultate erhalten.

Für ältere Blutflecken, in denen schon Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin eingetreten ist, haben Strassmann und Ziemke eine zweite Methode, die auf der Bestimmung der Trockensubstanzen des Blutes beruht, angegeben. An gleichen Flächenteilen des blutgetränkten und des blutfreien Gewebes wird die Trockensubstanz ermittelt; die Gewichtsdifferenz entspricht dann dem Gewichte der Trockensubstanz des Blutes. Die bei diesen Laboratoriumsversuchen erhaltenen Zahlen blieben bis zu 20 % hinter dem wahren Wert zurück. Durch Verunreinigungen irgendwelcher Art, sowie durch Fäulnis können diese Fehler nicht unerheblich erhöht werden.

Ein einfaches, zur schnellen Orientierung brauchbares Verfahren wird von H. Marx angegeben. Die blutgetränkten Gegenstände werden 24 bis 48 Stunden mit destilliertem Wasser ausgelaugt; darauf wird das spezifische Gewicht der Lösung mittels eines Aräometers bestimmt. Aus dem spez. Gewicht der Lösung, das im direkten Verhältnis zur Menge des ausgelaugten Blutes steht, aus der Menge des benutzten Wassers und aus dem spezifischen Gewicht des Blutes = 1055 wird die Menge des Blutes berechnet. Diese Methode empfiehlt sich nach H. Marx besonders für die Messung großer Blutmengen.

Als weitere Methode für die quantitative Blutbestimmung hat A. Schultz neuerdings das biologische Verfahren zu verwerten gesucht. Er benutzte hierzu zwei konstante Eigenschaften der biologischen Reaktion, einmal die Tatsache, daß die Intensität der spezifischen Trübungen von dem jeweiligen Grade der Blutverdünnung abhängig und ihr genau angepaßt ist, und zweitens, daß sich der zeitliche Ablauf der Trübungen nach bestimmten Gesetzen vollzieht. Vorbedingung für die quantitative Bestimmung ist die Kenntnis der genauen Wertigkeit des zur Verwendung kommenden spezifischen Serums. Die Wertigkeit muß in einem solchen Falle nicht für Serum, sondern für Blut berechnet sein. Zu diesem Zwecke stellt man sich eine ganze Reihe Blutverdünnungen her, deren Abstände mit den zunehmenden Verdünnungen allmählich immer größer werden, z. B.: 1:100, 1:200, 1:400, 1:600, 1:800, 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:6000, 1:8000, 1:10000, 1:12000, 1:16000, 1:20000 usw. Zu jeder dieser Verdünnungen kommt ein 10 %iger Zusatz des homologen Antiserums; um dasselbe gleichmäßig in der Flüssigkeit zu verteilen, müssen die einzelnen Röhrchen geschüttelt werden. Der Beginn der spezifischen Trübungen bei den verschiedenen Konzentrationsgraden wird genau beobachtet und sofort zu Protokoll genommen. Auf diese Weise ist z. B. ermittelt worden, daß nach Zusatz des spezifischen Serums nach 30 Minuten bei der Verdünnung der Blutlösung von 1:10000 eine Trübung auftritt.

Jetzt wird das bluthaltige Material unter häufigem Umschütteln in der bekannten Weise mit 0,6 %iger Kochsalzlösung 24 Stunden ausgelaugt. Von dem erhaltenen, klar filtrierten Extrakte werden Verdünnungen in bestimmter Progression angelegt: hierzu kommen je 10 % des auf seine Wertigkeit geprüften Antiserums. Nach tüchtigem Durchschütteln wird der Beginn der Trübungen in den einzelnen Röhrchen schriftlich fixiert. Findet man nun beispielsweise in einem Röhrchen 30 Minuten nach dem Antiserumzusatz eine beginnende Trübung, so ist das ein Beweis dafür, daß man es auch hier mit einem Konzentrationsgrad von 1:10000 zu tun hat.

Für die Rechnung kommt dann folgendes in Betracht: Die Auslaugungsflüssigkeit besteht aus den in Lösung gegangenen spezifischen Bestandteilen des Blutes, dessen Menge ermittelt werden soll und die daher mit x bezeichnet wird, und der Kochsalzlösung, deren Menge bekannt ist und die mit k bezeichnet wird. Es verhält sich in der Auslaugungsflüssigkeit die Blutmenge zur Menge der Kochsalzlösung wie x:k. Wird jetzt ein abgemessenes Quantum dieser Auslaugungsflüssigkeit, z. B. 10 ccm, mit ebensoviel 0,6 %iger Kochsalzlösung gemischt, so ist nunmehr das Verhältnis der Blutmenge zur Kochsalzlösung wie x:2k. Ein abgemessenes Quantum dieses Gemisches wieder mit der gleichen Menge Kochsalzlösung zusammengebracht, gibt ein Verhältnis von x:4k. Ist nun die Konzentration einer in dieser Weise angelegten Verdünnung schließlich ermittelt — sagen wir in der mit x:200k bezeichneten Verdünnung —, so läßt sich daraus der Wert für x selbst berechnen. Beträgt die Konzentration z. B. 1:10000, so verhält sich $1:10000 = x:200k$ oder $x = {}^1/_{50}k$, oder, wenn k 2500 ccm beträgt, $x = 50$.

Die mit dieser Methode von Schultz erzielten Resultate waren sehr günstig; so konnte er in Sand, Gartenerde und Sägespänen Blut bis zu etwa 10 Tagen noch in ganzer Menge nachweisen; ferner konnte noch nach 8 Monaten die an Leinwand angetrocknete Blutmenge genau bestimmt werden. Aber diese Methode hat auch ihre

Fehlerquellen in der forensischen Praxis. Es kann durch Fäulnis, Hitze oder andere Schädigungen eine Reduktion der löslichen Eiweißkörper eingetreten oder es kann gelegentlich das Blut durch andere Eiweißkörper derselben Spezies verunreinigt sein.

Nachdem wir in den vorstehenden Ausführungen eine genaue Beschreibung der wichtigsten für die gerichtsärztliche Praxis in Betracht kommenden Blutdifferenzierungsmethoden gegeben und die Brauchbarkeit der einzelnen Verfahren kritisch beleuchtet haben, soll jetzt kurz der

Gang einer Blutuntersuchung

angegeben werden.

Die erste Frage, die der Sachverständige zu beantworten hat, ist stets: Handelt es sich überhaupt um Blut? Wenn auch in gerichtsärztlichen Untersuchungen nach der Vorgeschichte und nach dem Aussehen der Flecken vielfach darüber kein Zweifel besteht, so ist doch der einzig richtige Weg, dieses mit positiver Sicherheit zu beweisen, die Ausführung der chemisch-physikalischen Reaktionen.

Wenn für die forensische Blutuntersuchung reichliches Material zur Verfügung steht, so empfiehlt es sich, bei eingetrocknetem Blute als Vorproben die Richtersche Wasserstoffsuperoxydprobe und die van Deensche Guajakprobe auszuführen. Bei positivem Ausfall der erwähnten Vorproben wird man dann die mikroskopische und die Teichmannsche Häminprobe vorzunehmen haben. Bei ganz frischen Blutflecken und wenn es sich um die Differenzierung zwischen Säugetier- und Vogel- resp. Fisch- oder Amphibienblut handelt, darf die mikroskopische Untersuchung nicht unterbleiben. Fallen die beiden Proben negativ aus, so muß man den spektroskopischen Nachweis auf Blut zu erbringen suchen. Erst wenn auf diese Weise das Vorhandensein von Blut sicher bewiesen ist, geht man zur biologischen Methode über.

Stehen dem Sachverständigen nur Spuren von Untersuchungsmaterial zur Verfügung, so muß er natürlich auf einzelne der Vorproben verzichten. Da die Teichmannsche Häminprobe in einer großen Anzahl der Fälle nicht gelingt, obwohl sicher Blut vorhanden ist, so empfehlen Strassmann und H. Marx in solchen Fällen nur die spektroskopische Methode anzuwenden.

Der Gang der Blutuntersuchung bei geringfügigem Material ist nach den Angaben von H. Marx folgender:

„Der kleine verdächtige Fleck wird mit einer entsprechenden Menge 0,6%iger Kochsalzlösung während 24 Stunden ausgelaugt, ein Teil der Lösung wird durch Filtrieren und Zentrifugieren geklärt und eventuell mit Hilfe der Hauserschen Kapillarröhrchenmethode mittels entsprechenden Antiserums geprüft, der Rest der nicht filtrierten und nicht zentrifugierten Lösung wird mit einem oder mehreren Tropfen einer 1%igen Kalilauge alkalisch gemacht und durch Zusatz einer geringen Menge Schwefelammoniums reduziert.“ Bei Vorhandensein von Blutfarbstoff erhält man dann das Spektrum des Hämochromogens. Dasselbe besitzt zwei charakteristische Streifen, von denen der erste außerordentlich intensiv ist und etwa in der Mitte zwischen D und E liegt. Der zweite Streifen ist schwächer und liegt bei E.

Bei der Differenzierung mit Hilfe der biologischen Methode dürfte es sich immer empfehlen, zunächst festzustellen, ob das Blut vom Menschen herstammt. Bei negativem Ausfall der Reaktion wird man sich dann zur Beantwortung der weiteren vom Richter gestellten Fragen zuwenden.

Wird — in seltenen Fällen — der Sachverständige beauftragt, die Herkunft des Blutes zu bestimmen, ohne daß nach dem beigefügten Aktenmaterial irgend eine bestimmte Blutart in Betracht kommt, so ist es zweckmäßig, nach vorhergegangener Untersuchung auf Menschenblut, ein Schaf- oder Ziegenantiserum in Anwendung zu ziehen. Aus dem völlig negativen Ausfall der Reaktion wird dann geschlossen werden können, daß es sich nicht um Schaf-, Ziegen- oder Rinderblut handeln kann. Fällt dagegen die Reaktion positiv aus, so ist die Differenzialdiagnose zwischen Schaf-, Ziegen- und Rinderblut zu stellen; die erstere Entscheidung, ob Schaf- oder Ziegenblut, ist, wie bereits erwähnt, durch die biologische nicht sicher zu erbringen wegen der sehr nahen Verwandtschaft von Schaf und Ziege, während die zweite Entscheidung, ob Schaf- bezw. Ziegen- oder Rinderblut vorliegt, nach Verwendung von Rinderantiserum an der Hand von Kontrollproben mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, wenn auch nicht mit absoluter Sicherheit zu treffen ist. Ähnliche Verhältnisse wie bei Schaf und Ziege liegen bei anderen nahe verwandten Tieren vor, wie Pferd und Esel, Hund und Fuchs, auch bei den nahe verwandten Vogelarten, wie z. B. Gans und Ente, sind diese Verhältnisse wohl zu berücksichtigen.

Gutachten.

Um die **praktische Bedeutung der biologischen Methode** für die gerichtliche Medizin zu illustrieren, seien einige von den zahlreichen Gutachten, die Uhlenhuth in seinem Buche: „Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut sowie anderer Eiweißsubstanzen, und seine Anwendung in der forensischen Praxis“ (Verlag von Gustav Fischer, Jena, 1905) zusammengestellt hat, hier angeführt.

Es sei vorausgeschickt, daß die Nachprüfung der Methode im allgemeinen in der Weise erfolgte, daß man sich fast ausschließlich frischer ad hoc hergestellter Blutlösungen bediente, deren Herkunft infolgedessen den Untersuchern von vornherein bekannt war, in anderen Fällen benutzte man zur Untersuchung blutbefleckte Gegenstände, bei denen man auch schon bei Beginn der Untersuchung über die Herkunft des Blutes nicht im Zweifel war. Wenn nun auch diese Art der Prüfung eine zuverlässige Beurteilung der praktischen Brauchbarkeit der Methode gestattete, so erschien doch ein anderes Prüfungsverfahren einwandfreier, welches vollkommen den Verhältnissen der gerichtsärztlichen Praxis entsprach und bei welchem der Befund nicht von vornherein dem Sachverständigen bekannt war, sondern erst durch das Ergebnis der gerichtlichen Untersuchung kontrolliert wurde.

Herr Geheimrat Loeffler, der Direktor des hygienischen Instituts zu Greifswald, in dem Uhlenhuth damals arbeitete, hatte seiner Zeit die Liebenswürdigkeit, bei seiner Exzellenz dem Herrn Justizminister die Zusendung alter blutbefleckter Asservate an das hygienische Institut zu beantragen. Dank dem hervorragenden Interesse, welches Seine Exzellenz der Herr Justizminister dieser neuen für die Justiz so wertvollen Methode entgegenbrachte, sind dann seiner Verfügung gemäß dem Institute aus dem Bereiche des Kammergerichts und Landgerichts zu Breslau zahlreiche derartige Asservate zugeschickt worden. Dieselben wurden Uhlenhuth dann direkt, ohne weitere Angaben, zur Untersuchung übergeben; nach Abgabe des Gutachtens wurde dann dasselbe mit den Aktenangaben der betreffenden Gerichte verglichen und auf seine Richtigkeit geprüft. Ferner wurden einige blutbefleckte Corpora delicti von der Staatsanwaltschaft zu Greifswald, sowie von dem Direktor des gerichtlich-medizinischen Instituts der Universität, Herrn Prof. Dr. Beumer zur Untersuchung überwiesen. Nachdem in jedem einzelnen Falle die richtige Diagnose gestellt war und somit die Methode in kürzester Zeit sich als durchaus leistungsfähig erwiesen hatte, ist Uhlenhuth denn auch in zahlreichen Prozessen von den Gerichten zur Begutachtung von Blutflecken aufgefordert worden. Es mögen folgende Untersuchungsbefunde und Gutachten z. T. auszugsweise hier Erwähnung finden.

1. Meterlanger kantiger Knüppel mit einigen verwaschenen bräunlichen Flecken aus dem Jahre 1900. (St. A. Gr.)

Von dem verdächtigen Material wird etwas abgekratzt und in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Es entsteht eine nicht deutlich gefärbte, beim Schütteln aber leicht schäumende klare Flüssigkeit. Zu 2,0 ccm derselben Zusatz von etwa fünf Tropfen (0,1 ccm) des Serums eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens. Fast momentane Trübung, die sich bald als Niederschlag absetzt. Kontrollen bleiben klar.

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Fall von schwerer Körperverletzung. Schlag auf den Kopf. Blutende Wunde.

2. Rötlich gefärbter Sand aus dem Jahre 1896. Aufschwemmen des Sandes in physiologischer Kochsalzlösung. Schwach gelbliche klare Flüssigkeit. Zusatz des Serums wie bei 1. Fast momentaner Niederschlag. Kontrollen bleiben klar.

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Blutspur von einem in der Nähe von G. verübten Mord herrührend.

3. Baumwollenes Tuch mit einigen rötlichen Flecken aus dem Jahre 1897. Auswaschen der verdächtigen Stellen mit physiologischer Kochsalzlösung. Zusatz zu der schwach gelblich gefärbten Flüssigkeit wie bei 1. Fast momentan Trübung, die sich schnell als Niederschlag zu Boden setzt. Kontrollen bleiben klar.

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Das Tuch wurde bei einem Erwürgten gefunden.

4. Hose mit rötlich verwaschenen kleinen Flecken am Hosenschlitz in der Genitalgegend. 1901. (Str. A. Gr.)

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Verdacht auf Notzucht. Die Untersuchung ergab: Kohabitation mit einer menstruierenden Person.

5. Beil mit einigen Blutspuren am Griff. Aus dem Jahre 1900. (St. A. Gr.)

Verfahren wie oben.

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Fall von schwerer Körperverletzung.

6. Blutdurchtränktes leinenes Tuch.

Verfahren wie oben.

Bei Zusatz des Serums eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens: Reaktion negativ. Zusatz des Serums eines Hammelblutkaninchens zu demselben Röhrchen: Reaktion negativ. Zusatz des Serums eines Pferdeblutkaninchens zu demselben Röhrchen: Reaktion negativ. Zusatz des Serums eines Schweineblutkaninchens zu demselben Röhrchen: Reaktion stark positiv.

Diagnose: Schweineblut.

Nachträgliche Angabe: Das Tuch war zu demonstrativen Zwecken vor mehreren Jahren mit Schweineblut durchtränkt. (Prof. Beumer).

7. Angetrocknetes Blut aus dem Jahre 1897.

Diagnose: Schweineblut.

Durch nachträgliche Angabe von Herrn Prof. Beumer bestätigt.

8. Angetrocknete Blutmischung verschiedener Säugetiere aus dem Jahre 1899.

Diagnose: Schweine- und Hammelblut.

Durch Herrn Prof. Beumer nachträglich bestätigt.

9. Blutbeflecktes Notenblatt. Gefunden auf der Gützkower Chaussee (Greifswald) in einer Blutlache.

Diagnose: Schweineblut. Es konnte infolgedessen der Verdacht auf einen Mord sofort beseitigt werden.

10. a) Taschentuch } mit Blut befleckt.
b) Messer }

Königliches Landgericht P. Strafsache gegen den Rohrleger Felix U.

Verfahren wie oben.

Diagnose: ad a) } Menschenblut.
ad b) }

Nachträgliche Angabe: U. hat glaubhaft eingestanden, daß er mit dem Messer den Steinmetz J. in die Brust gestochen hat, während er erst behauptete, die Blutflecken im Taschentuch rührten von seinem eigenen Nasenbluten her.

11. Blutbefleckte Stückchen einer Hose und eines Hemdes.

Landgericht München. Von Herrn Prof. Bollinger übersandt. Strafsache gegen Johann B. (wegen Notzucht).

Verfahren wie oben.

Diagnose: Menschenblut an Hemd und Hose.

Nachträgliche Angabe: Es handelt sich um Menschenblut. Die Anklage war hier fallen gelassen worden, da dem Angeklagten nicht nachgewiesen werden konnte, daß die Blutspuren von dem Getöteten oder einer anderen Person herrührten.

12. Hobelspäne von Brettern einer Kiste mit Blut befleckt.

Landgericht München. Von Herrn Prof. Bollinger übersandt. Strafsache gegen den Tagelöhner Peter B.

Frage: Ob Menschen- oder Tierblut.

Verfahren wie oben.

Diagnose: Kein Menschenblut, kein Schweine- oder Pferdeblut.

Wegen Mangel an spezifischem Serum wurde die Untersuchung nicht weitergeführt.

Nachträglich wurde angegeben, daß es sich um Jagdvergehen handelte und das Blut von einem Reh stammte.

13. Proben einer blutbefleckten Weste und Hose.

St. A. Braunschweig, durch Gerichtschemiker Dr. Nehring mit folgender Notiz übersandt: Drei auserlesene Schafböcke des Herrn v. K. in L. wurden eines Nachmittags (Mittags waren sie noch munter) ermordet im Schafstall aufgefunden. Es waren sämtliche Arbeiter bis auf zwei auf dem Felde. Fremde Leute hatten keinen Zutritt, so blieb der Verdacht auf den beiden Zurückgebliebenen hängen. Das Zeug etc. wurde zur Untersuchung eingeliefert. Es konnte von mir (Dr. Nehring) jedoch nur ein kleines Blutfleckchen am Ärmel festgestellt werden.

Von diesem Fleck wurde nun etwa die Hälfte mir eingesandt.

Verfahren wie oben.

Diagnose: Kein Schafblut, Hühnerblut.

Nachträgliche Angabe: Der Arbeiter, an dessen Weste oben am Ärmelloch das Blut gefunden wurde, erhielt am Tage vor dem Schafbockmorde von der Köchin ein Huhn zum Schlachten. Bei dieser Gelegenheit müssen die Blutspuren dorthin gelangt sein. Er selbst hatte keine Ahnung davon.

14. Blutbefleckte Hobelspäne vom Fußboden.

St. A. Braunschweig, durch Herrn Gerichtschemiker Dr. Nehring, übersandt. Mordprozeß R.

Verfahren wie oben.

Diagnose: Menschenblut.

Nachträgliche Angabe: Der Mörder hat gestanden, daß es sich um Menschenblut handelt.

15. Gerichtlich-medizinisches Institut Bukarest. Prof. St. Minovici. 1. Zwei kleine blutbefleckte Zeugproben A. und B.

Frage: Ob Menschen- oder Schweineblut.

Verfahren wie oben.

Diagnose: A. Menschenblut. B. Schweineblut.

2. Hemd.

Diagnose: Hühnerblut.

3. Zwei Hemden.

Diagnose: Menschenblut.

4. Hemd.

Diagnose: Menschenblut.

5. Hemd.

Diagnose: Menschenblut.

6. Hemd.

Diagnose: Menschenblut.

7. Hose.

Diagnose: Menschenblut.

8. Stück eines Brettes.

Diagnose: Hühnerblut.

9. Leinenes Tuch.

Diagnose: Menschenblut.

10. Zwei Hemden, zwei Hosen.

Diagnose: Menschenblut.

11. Hemd.

Diagnose: Menschenblut.

12. Maisblatt.

Diagnose: Menschenblut.

Diese Diagnosen sind mir von Herrn Prof. Minovici sämtlich bestätigt. Leider war es nicht möglich, einen Auszug aus den betreffenden Gerichtsakten mir zugänglich zu machen.

16. Blutbefleckter Rock.

Kgl. Amtsgericht Marklissa. Strafsache gegen D. und Genossen.

Verfahren wie oben.

Diagnose: Kein Menschenblut, kein Schweineblut.

In Ermangelung anderer Sera konnte die Untersuchung nicht fortgeführt werden.

Nach Einsicht in die Akten: Nach dem Ergebnis der Untersuchung rührt das Blut von einem, von einem Wilddieb zerlegten Rehbocke her.

17. Angetrocknetes Blut aus Luxemburg.

Laboratorium des Herrn Dr. Praum.

Das Blut wurde vor dem Hause eines nachher aus der Mosel als Leiche herausgezogenen Mannes gefunden.

Frage: Ob Menschen- oder Tierblut.
Diagnose: Menschenblut.
Nachträgliche Angabe: Es wurde durch die gerichtliche Untersuchung festgestellt, daß ein Selbstmord vorlag. Der Mann hatte schon lange Selbstmordgedanken geäußert wegen seiner sehr quälenden Psoriasis und eines schweren inneren Leidens, das, wie die Autopsie lehrte, in einem Karzinom des Duodenums mit Metastasen in der Leber bestand. Die Familie hat, um das Odium eines Selbstmordes los zu werden, den Leichnam in den Moselfluß geworfen.

18. Fetzen einer wollenen Weste sowie ein Holzkober.
St. A. C. Mordprozeß Schl. vom 14. Juni 1900.
Diagnose: Menschenblut.
Nachträgliche Angabe: Der Westenfetzen hat in der bei der Ermordung entstandenen Blutlache gelegen; ebenso ist am Tatorte der Kober gefunden worden. Die Blutflecken können nach dem Ausfall der gerichtlichen Untersuchung nur von dem Ermordeten herrühren.

19. Hose des Arbeiters Z.
Kgl. Amtsgericht Treptow a. Toll.
Der Angeklagte, dem die Hose gehört, steht im Verdacht, einen Hühnerdiebstahl begangen zu haben. Er behauptet, das Blut an seiner Hose sei Kaninchenblut.
Schon die mikroskopische Untersuchung des an der Hose befindlichen Blutes nach Behandlung mit 30%iger Kalilauge ergab elliptische Blutkörperchen, wie sie für das Vogelblut charakteristisch sind. Die Reaktion mit dem Serum eines mit Hühnerblut vorbehandelten Kaninchens zeigt momentan starke Fällung, während die Kontrollen mit den Blutlösungen anderer Vögel, Gänse, Enten nur eine viel später auftretende schwache Trübung erkennen lassen.
Diagnose: Hühnerblut.
Durch den Gang der gerichtlichen Untersuchung wird die Diagnose bestätigt.

20. a) Drei Hemden (1, 2, 3). b) Ein Taschentuch.
Kgl. Landgericht Neu-Ruppin. Raubmordprozeß L.
Diagnose: Die zahlreichen kleinen Blutflecken an den Hemden 1 und 2 bestehen aus Menschenblut. Am Hemde 3 und dem Taschentuch sind keine Blutflecken nachweisbar.

21. Mordprozeß gegen den Tagelöhner M. Landgericht Straßburg i. E.
1. Hose,
2. Hemde,
3. Strümpfe,

} mit Blut befleckt.

Der Angeklagte behauptet, die Blutflecke rührten von Kuhblut her. Eine Kuh habe sich im Stalle das Horn abgestoßen und dabei sei das Blut an seine Kleider gekommen.
Diagnose: Menschenblut, kein Kuhblut.

22. Mordprozeß T.
In der Voruntersuchung gegen den wegen Mordes beschuldigten Tischlergesellen Ludwig T. aus St. sind mir auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Kgl. Landgericht zu G., Herrn Landgerichtsrat H. nebst einem Schreiben des letzteren vom 29. Juli 1901, J. 597/01, 37 und vom 1. August 1901, J. 957/01, 40, die Kleidungsstücke des p. T. übersandt mit dem Ersuchen, festzustellen, ob und an welchen Stellen der Sachen sich Blut befindet und ob dasselbe Menschenblut ist oder von welcher Art von Tieren es herrührt.
Angaben der Staatsanwaltschaft: „Den bei der Verhaftung getragenen Anzug nebst Hut hat sich der Beschuldigte erst am Sonnabend vor Pfingsten, also den 25. Mai 1901, neu angeschafft, ebenso erst um dieselbe Zeit die neuere Leibwäsche. Bei der Arbeit hat er diesen Anzug nicht getragen. Bei der Verhaftung am 2. Juli 1901 haben die Zeugen anscheinend ganz frische Blutflecke bemerkt unter dem Rande des Hutes, ferner am linken Hosenbein einen kaum zehnpfennigstückgroßen Blutfleck, etwas unter der Wade, sodann Blutspritzen auf dem Vorhemd und dem hellen, langen Schlips, endlich Blutflecken auf einem Jackettärmel und an anderen Stellen des Jacketts, welches letztere aber an verschiedenen Stellen, namentlich in der Gegend der unteren linken Tasche, kürzlich ausgewaschen zu sein schien, endlich an miteinander harmonierenden Stellen des angeblich schmutzigen Hemdes, des Hosenfutters und des Rückenfutters der Weste, welche den Eindruck machten, als ob dort eine blutige Hand abgewischt sei. T. hat damals nur Blutflecke am Hut zugegeben mit der Behauptung, daß dies schon älteres Blut sei, von den übrigen anscheinenden Blutflecken aber behauptet, daß es Tischlerbeize sei.
Ich bemerke noch, daß sich in dem hellen Futter der linken unteren Westentasche und der beiden Jackettärmel augenscheinlich Blutflecken befinden, auch wohl kleine Blutspritzen auf dem Papierkragen. Der alte zerrissene Anzug soll an der

Hose Blutspuren enthalten, namentlich einen großen Blutfleck. Ich bemerke dazu außerdem, daß T. dringend verdächtig ist, in der Nacht vom 11. zum 12. Juni 1901, also etwas über zwei Wochen vor dem Mord in G., eine Anzahl Schafe auf dem Felde bei S. hingeschlachtet zu haben. Ob er hierbei den neuen oder alten Anzug und Hut getragen hat, ist noch nicht festgestellt.

T. ist auch verdächtig, vor Anschaffung des neuen Anzuges in der Zeit nach dem 3. April 1901, aber vor Pfingsten, eine Katze umgebracht zu haben, deren Blut also an den alten Anzug gekommen sein könnte.

Ich bitte um Abgabe eines schriftlichen Gutachtens über den Befund der Untersuchung. Die für den Anblick der Geschworenen charakteristischen und überzeugenden Blutflecke bitte ich möglichst in ihrer augenfälligen Gestalt und Farbe schonen zu wollen. Schließlich füge ich auch den an der Mordstelle im Walde gefundenen, anscheinend größtenteils mit Blut überzogenen Stein bei, mit dem Ersuchen, unter möglichster Schonung des blutigen Überzuges festzustellen, ob dieser Überzug aus Menschenblut besteht."

Die mir zur Untersuchung übergebenen Sachen sind folgende:

I. Die von T. bei seiner Verhaftung getragenen Sachen: 1. Jackett, 2. Weste, 3. Hose, 4. Hemd, 5. Vorhemd, 6. Kragen (Papier), 7. Schlips, 8. ein Paar Strümpfe, 9. ein Hut, dazu 10. ein faustgroßer Kieselstein, in Papier eingewickelt.

II. Ein Anzug und die Leibwäsche, welche der Beschuldigte bei der Arbeit getragen hat: 1. eine blaue Schürze, 2. eine zerrissene Hose, 3. drei Hemden.

Methode der Untersuchung:

Nachdem durch den positiven Ausfall der Guajak- und Teichmannschen Blutprobe festgestellt war, daß die blutverdächtigen Flecke in der Tat von Blut herrührten, wurde sogleich dazu übergegangen, die Herkunft des Blutes festzustellen. Zur Untersuchung wurden zahlreiche blutverdächtige Stellen aus den betreffenden Kleidungsstücken herausgeschnitten, resp. blutverdächtiges Material von den Sachen abgekratzt und mit physiologischer (0,8%) Kochsalzlösung ausgelaugt. Die so gewonnene Lösung wurde durch Filtrierpapier filtriert und so mit dem betreffenden spezifischen Serum versetzt.

Der Nachweis der verschiedenen Blutarten beruht auf der Tatsache, daß das Blutserum eines mit einer bestimmten Blutart längere Zeit vorbehandelten Kaninchens beim Zusatz zu einer Blutlösung desjenigen Tieres, mit welcher das Kaninchen vorbehandelt worden ist, einen Niederschlag erzeugt. Ein mit Menschenblut vorbehandeltes Kaninchen liefert z. B. ein Serum, welches nur in einer Menschenblutlösung einen Niederschlag hervorruft. Sämtliche von anderen Tieren herstammende Blutlösungen bleiben beim Zusatz dieses Serums klar, mit einer einzigen Ausnahme, nämlich der Affenblutlösung. Für die forensische Praxis dürfte diese Tatsache ohne irgendwelche Bedeutung sein. Auch sonst muß man beim Anstellen der Reaktion beachten, daß die zoologische Verwandtschaft gewisser Tiere bei dieser Reaktion zum sichtbaren Ausdruck gelangt. So gibt das Serum eines mit Schafblut vorbehandelten Kaninchens außer einem starken Niederschlag in einer Schafblutlösung eine etwas schwächere Trübung in einer Ziegenblutlösung, eine noch schwächere in einer Rinderblutlösung. Diese Tatsache stimmt vollkommen überein mit der sehr nahen Verwandtschaft des Schafes mit der Ziege einerseits und mit dem Rinde andrerseits.

Nach der soeben angegebenen Methode sind die Sachen des T. untersucht worden.

Der Untersuchungsbefund ist folgender:

Zu I, 1. Jackett.

Rechter Ärmel: An der Außenseite vorn 2,0 resp. 5,0 cm oberhalb des unteren Ärmelrandes befinden sich zwei bohnen- resp. erbsengroße rötliche, verwaschen aussehende Flecken: Menschenblut.

Drei Querfinger breit oberhalb derselben sieht man eine längliche, ca. 7,0 cm lange und 2,0 cm breite, rötlich gefärbte, verwaschene Stelle. Auslangen mit physiologischer Kochsalzlösung. Zu der filtrierten Lösung Zusatz von Serum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens. Reaktion negativ.

a) Zusatz von Serum eines mit Schafblut vorbehandelten Kaninchens. Reaktion stark positiv.

b) Kontrollen:

Zusatz desselben Serums zu einer gleich starken Lösung von Schafblut wie sub a. Reaktion stark positiv, ebenso wie sub a.

Zusatz desselben Serums zu einer ebenso starken Ziegenblutlösung: langsam auftretende schwache Trübung.

Zusatz desselben Serums zu einer ebenso starken Rinderblutlösung: sehr langsam auftretende, sehr schwache Trübung: Schafblut (da Ziegen- und Rinderblut nicht in Betracht kommt).

An der ganzen Außenseite des rechten Ärmels sieht man ferner sehr zahlreiche, rötlich verwaschene Flecken von verschiedenster Größe und Gestalt. Ebenso befinden sich an der dem Körper zugewandten Seite des rechten Ärmels zahlreiche, zum Teil verwaschene, gelbrötliche Flecken: Menschenblut.

Linker Ärmel: Sowohl an der äußeren wie an der dem Körper zugewandten Seite sehr zahlreiche, rötlichbraune Flecken, welche aussehen, als ob sie energisch ausgewaschen wären. Zwei solcher Flecken werden untersucht:

α) an der dem Körper zugewandten Seite 2,0 cm oberhalb des unteren Ärmelrandes ein zweimarkstückgroßer Fleck: Schafblut (s. o.).

β) An der Außenseite 10,0 cm über dem unteren Ärmelrande ein einmarkstückstückgroßer Fleck: Menschenblut.

Rechte Jacketthälfte: Vorn von oben bis unten überall zahlreiche, rötlich verwaschene Stellen. Auf der Innenseite, dicht am Rande, entsprechend den beiden obersten Rockknöpfen, eine zweimarkstückgroße gelbrote verwaschene Stelle: Menschenblut.

Linke Jacketthälfte: Im Aussehen wie die rechte. Ein verdächtiger Fleck dicht oberhalb der linken Tasche: Schafblut (s. o.).

Linke Schulter: Dicht neben dem Rockkragen ein zehnpfennigstückgroßer rotbrauner Fleck: Schafblut.

Linke Kragenhälfte zeigt zahlreiche verwaschene, rötlichgelbe Flecken, am deutlichsten in der Gegend des winkelförmigen Schlitzes in der Nähe des Knopfloches: Schafblut.

Rechte Kragenhälfte ist ebenfalls mit zahlreichen, verwaschen aussehenden, gelbroten Stellen bedeckt. Ein einmarkstückgroßer blutverdächtiger Fleck dicht über dem obersten Rockknopf: Schafblut (s. o.).

Futter beider Ärmel: Am unteren Rande, dort wo das Futter am Ärmelstoff angenäht ist, sieht man zahlreiche, braunrot gefärbte, streifige Flecken, besonders auf der Höhe der dort befindlichen Falten: Menschenblut.

An der Rückenseite des Jaketts sind keinerlei blutverdächtige Stellen wahrzunehmen.

Zu I, 2. Weste.

Die Weste zeigt in der ganzen Umgebung der linken unteren Tasche sehr deutliche, rötlich verwaschene Flecken; besonders ist eine rötliche Verfärbung des Saumes dieser Tasche auffallend. An den hinteren Enden des Saumes wird ein Stück zur Untersuchung herausgeschnitten: Menschenblut.

Auch am oberen Rande des Futters dieser Tasche bemerkt man drei verwaschene blutige Flecken, der eine ist ca. $1^1/_2$ cm lang und $^1/_4$ cm breit. Derselbe besteht aus Menschenblut. Das Westenfutter zeigt, etwa dieser Taschengegend entsprechend, am unteren Rande zwei unregelmäßige, sehr deutlich blutrot gefärbte Stellen: beide Menschenblut.

Sonst habe ich an der Weste keine blutverdächtigen Flecke nachweisen können.

Zu I, 3. Hose.

Das ganze linke Hosenbein ist besonders an seiner vorderen Hälfte bedeckt mit zahlreichen, zum Teil ineinander übergehenden kleineren und größeren, unregelmäßig gestalteten, rötlich verwaschenen Flecken. Ganz besonders auffallend ist ein handgroßer Fleck dicht über der Kniegegend.

Dieser besteht aus Schafblut.

Ein der Kniegegend entsprechender, zehnpfennigstückgroßer Fleck besteht aus Menschenblut.

Ähnlich ist das Bild des rechten Hosenbeins. Auch hier ist die Kniegegend ganz besonders mit zahlreichen, rötlich verwaschenen Stellen bedeckt.

Ein fünfmarkstückgroßer Fleck dicht unterhalb des rechten Knies besteht sowohl aus Menschenblut; wie aus Schafblut.

Dicht oberhalb des Knies, an der Innenseite wie an der inneren Naht des Hosenbeins ein dreimarkstückgroßer blutverdächtiger Fleck: Schafblut.

Sehr große, rötlich verwaschen aussehende Stellen sieht man ferner in der Genitalgegend am Hosenschlitz und zu beiden Seiten desselben.

Linker Hosenschlitz: Zwei etwa 4,0 cm lange und 1,5 cm breite rötliche Stellen werden herausgeschnitten und untersucht: beide Menschenblut.

Rechter Hosenschlitz: Nach außen von den beiden untersten Knöpfen ein dreimarkstückgroßer, gelbroter verwaschener Fleck: Menschenblut.

Am Hosenfuttersaum, dicht am oberen Rande der linken Hosenhälfte, etwa den vorderen Hosenträgerknöpfen entsprechend, nach unten sich auf das Zeug der Tasche erstreckend, ein etwa handtellergroßer, unregelmäßig gestalteter, roter Fleck, der der auch am äußeren Saum der Hosenseite, dem hinteren der vorderen Trägerknöpfe entsprechend, in einer Länge von 5,0 cm und einer Breite von 2,6 cm sichtbar wird: Menschenblut.

Handbreit nach hinten auf dem Hosenfuttersaum ebenfalls ein roter Fleck von unregelmäßiger Gestalt (2,5 cm lang, 1,0 cm breit). Rechte Hosentasche: Auf der Innenseite zahlreiche gelbbraune, zum Teil zirkumskripte, zum Teil verwaschene Flecken: Menschenblut.

Zu I, 4. Hemd.

An der Außenseite, der linken Gesäßhälfte entsprechend, ein unregelmäßig gestalteter handgroßer, rotbrauner Fleck: Menschenblut.

An der Innenseite des Hemdes, in der Gegend des unteren Hemdenrandes, hinten mehrere streifige, braungelbliche Flecken, welche die Blutreaktion nicht geben und offenbar von Kot herrühren. In derselben Gegend an der Innenseite, zum Teil auch nach außen hin sichtbar, ein kleinapfelgroßer, gelber, mit Krusten bedeckter Fleck, welcher auch von Kotschmutz herrührt.

Zu I, 5. Vorhemd.

Man sieht auf demselben ganz vereinzelte, äußerst kleine, rötliche Spritzerchen, welche aber so minimal sind, daß sie zur Anstellung von Blutreaktion nicht ausreichen.

Zu I, 6, Kragen (Papierkragen).

Auf der rechten Klappe, sowie auch auf der Außenfläche der Rundung mehrere ganz winzig rote Fleckchen, die ebenfalls für die Blutreaktion nicht genügend Material liefern.

Zu I, 7. Schlips. Der obere Teil desselben zeigt im ganzen eine gelblichgraue Verfärbung mit vier winzigen rötlichen Flecken, welche zur Anstellung der Blutprobe nicht ausreichen.

Zu I, 8. Strümpfe.

In der Hacken- und Zehengegend rötlichschwarze Verfärbung. Die Blutreaktion fällt negativ aus. Es handelt sich offenbar nicht um Blut-, sondern um Schweißflecke.

Zu I, 9. Hut.

An der unteren Fläche der Hutkrempe, an der Seite, welche der Naht des Schweißleders entspricht, sieht man zahlreiche stecknadelkopf- bis linsengroße, rundliche, spritzerartige, rötlichbraune Flecken. Drei dieser Flecken: Menschenblut.

Zu I, 10. Stein.

Der mannesfaustgroße Kieselstein, an welchem einige Moosreste kleben, zeigt fast an seiner ganzen äußeren Fläche einen roten Überzug, der sich zum Teil abkratzen läßt: Menschenblut.

Das Papier, in welchem der Stein eingewickelt ist, ist außen und innen mit roten unregelmäßigen Flecken bedeckt: Menschenblut.

Zu II, 1. Blaue Schürze.

Ist ganz bedeckt mit gelblichgrauen, borkigen Flecken (welche die Blutreaktion nicht geben), welche von Leim oder Tischlerbeize herrühren.

Zu II, 2. Zerrissene Hose.

Am linken Hosenbein, dicht unterhalb des Knies, eine handtellergroße, braunrötliche, mit braunen Borken bedeckte Stelle. Eine ähnliche fünfmarkstückgroße Stelle befindet sich unterhalb der linken Hosentasche. Blutreaktion negativ. Höchstwahrscheinlich rühren diese Flecken von Farbe oder Tischlerbeize her.

Zu II, 3. Drei Hemden.

Alle zeigen in der Aftergegend gelbbraune streifige Flecken. Unter dem Hemdeneinsatz sieht man ferner in allen drei Hemden einen mehr rötlichbraunen Fleck. Blutreaktion negativ. Die ersteren streifigen Flecken rühren wohl zweifellos von Kot her, während die letzteren rötlichbraunen Flecken von Farbe oder Tischlerbeize herrühren.

Die Bemerkung in dem Schreiben der Staatsanwaltschaft, T. sei verdächtig, vor Anschaffung des neuen Anzuges eine Katze umgebracht zu haben, deren Blut also an den alten Anzug gekommen sein könnte, veranlaßte mich zu einer eingehenden Untersuchung des alten Anzuges auf Katzenblut. An keiner Stelle desselben hat sich jedoch solches mit Hilfe der spezifischen Serumreaktion nachweisen lassen.

Fasse ich nunmehr das Resultat meiner Untersuchungen zusammen, so kann ich mein Gutachten folgendermaßen abgeben:

1. An den Sachen, die unter II bezeichnet sind (alter Anzug und Leibwäsche), sind keine blutverdächtigen Stellen nachweisbar.

2. An den unter I verzeichneten, von dem Beschuldigten bei seiner Verhaftung getragenen Sachen ist sowohl Menschenblut (wenn Affenblut auszuschließen), wie

auch zum Teil Schafblut (wenn Ziegen- und Rinderblut auszuschließen) nachweisbar und zwar:

	Menschenblut:	Schafblut:
Jackett	an 6 Stellen	an 6 Stellen
Hose	„ 7 „	„ 3 „
Weste	„ 4 „	„ 0 „
Hemd	„ 1 „	„ 0 „
Hut	„ 4 „	„ 0 „

3. Die unter I aufgeführten Sachen: Schlips, Kragen und Vorhemd zeigten so winzige blutverdächtige Flecke, daß sie für die Anstellung der spezifischen Blutreaktion nicht genügend Material lieferten.

4. Der rötliche Überzug auf dem zu I erwähnten faustgroßen Kieselstein besteht nur aus Menschenblut (s. oben). Ebenso bestehen die rötlichen Flecken auf dem Papier, in welchem der Kieselstein eingewickelt war, nur aus Menschenblut (s. oben).

Hierzu bemerke ich noch folgendes: Das Vorhandensein von Schafblut an seinen Kleidern hatte T. stets in Abrede gestellt; als ihm dann auf den Kopf zugesagt wurde, an seinen Kleidern wäre Schafblut nachgewiesen, sagte er: „Wenn dort Schafblut gefunden ist, so muß es wohl jemand angeschmiert haben."

Durch die Beweisaufnahme ist dann auch absolut sicher festgestellt, daß er auch die Schafe in S. umgebracht hat. Auch des ihm zur Last gelegten Mordes ist T. überführt und zum Tode verurteilt worden.

23.

Der Erste Staatsanwalt T., den 28. August 1903.
5 J 102/03.

Haftsache.

In der Untersuchungssache wider den Fleischer Albert H. aus L. übersende ich Euer Hochwohlgeboren hierbei:

1. eine gelbbraune Hose,
2. ein Hemd,
3. ein Taschentuch

mit dem ergebenen Ersuchen, diese drei Stücke daraufhin zu untersuchen, ob die in ihnen befindlichen Blutflecken von Menschenblut herrühren und ein Gutachten über das Ergebnis der Untersuchung zu erstatten.

Zur Information darf ich wohl hervorheben, daß der Angeschuldigte, welchem die übersandten drei Stücke gehören, unter der Beschuldigung steht, einen Raubmord ausgeführt zu haben.

Da die Sache bereits in der nächsten Schwurgerichtsperiode zur Aburteilung gelangen soll, so ersuche ich Euer Hochwohlgeboren um gefällige äußerste Beschleunigung und Rücksendung der Asservate, sobald sie dort entbehrlich sind.

gez. E.

Greifswald, 8. September 1903.

Gutachten.

Auf Veranlassung des Ersten Staatsanwaltes zu T. sind mir unter 28. VIII. 03 Journ.-Nr. 5 J 102/03 in der Untersuchungssache wider den Fleischer Albert H. aus L. 1. ein Hemd, 2. ein Taschentuch und 3. eine Hose übersandt mit dem Ersuchen, festzustellen, ob die an diesen Sachen befindlichen Blutflecken von Menschenblut herrühren, und ein Gutachten über das Ergebnis der Untersuchung zu erstatten.

ad 1. Hemd.

Die äußere Besichtigung ergibt folgenden Befund:

An den unteren Dritteln beider Ärmel, ganz besonders an dem umgenähten Ärmelrand, befinden sich an der Außenseite, zum Teil aber auch an der Innenseite, zahlreiche diffuse und zirkumskripte braunrote Flecke von verschiedener Größe und Gestalt, die auf den ersten Blick den Verdacht erwecken, daß sie von Blut herrühren. Besonders verdächtig erscheinen einzelne winzige Fleckchen an beiden Ärmeln, die wie Blutspritzer aussehen.

Um nun den Beweis zu erbringen, daß diese blutverdächtigen Flecken in der Tat von Blut herrührten, wurden zunächst die üblichen chemischen Reaktionen angestellt.

Behufs Ausführung derselben wurden zahlreiche kleine Partikelchen des blutverdächtigen Materiales abgekratzt, zerzupft und mit etwas Wasser auf einem Stückchen Filtrierpapier ausgelaugt, sodaß an diesen Stellen das Papier gelblich gefärbt erschien. Sodann wurde als Vorprobe die VAN DEENsche Guajak-Probe angestellt; d. h. die gelblich gefärbten Fleckchen auf dem Filtrierpapier wurden mit ozonhaltigem Terpentinöl und alkoholischer Guajakharzlösung übergossen. Sofort trat eine intensive Blaufärbung der vorher gelblich gefärbten Flecken auf, wie sie für das Vorhandensein von Blut charakteristisch ist. Doch genügt diese Reaktion nicht für den sicheren Nachweis von Blut.

Es wurde daher weiterhin die TEICHMANNsche Häminprobe ausgeführt. Einzelne zerzupfte, blutverdächtige Fäserchen wurden mit einigen Körnchen Kochsalz und wenigen Tropfen Eisessig versetzt; sodann wurde das Ganze über der Flamme leicht erwärmt und mikroskopisch untersucht. Man sah dann bei dieser mikroskopischen Betrachtung sehr zahlreiche rhomboide Stäbchen und hanfkornförmige Gebilde, die sog. Häminkristalle. Durch diesen Befund war der Nachweis von Blut mit Sicherheit erbracht.

Es konnte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden.

Die Bestimmung derselben erfolgt nach der von mir angegebenen und in die forensische Praxis eingeführten Methode. Sie beruht auf der Tatsache, daß das Serum eines mit Blut längere Zeit vorbehandelten Kaninchens die Eigenschaft besitzt, nur in der zur Vorbehandlung benutzten Blutlösung einen Niederschlag zu erzeugen, während der Zusatz desselben Serums zu anderen Blutlösungen in diesen einen Niederschlag nicht hervorruft.

Da hier zunächst der Verdacht auf Menschenblut vorlag, wurde zu einer aus den blutbefleckten Zeugstückchen durch längeres Auslaugen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten stark verdünnten Blutlösung ein gewisses Quantum hochwertigen Blutserums eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens hinzugefügt. Schon nach wenigen Augenblicken war in dieser Lösung eine starke Trübung entstanden, die sich bald als flockiger Niederschlag auf dem Boden des Reagenzglases absetzte. Die Kontrollblutlösungen der verschiedensten Tiere, Schwein, Hammel, Rind, Pferd usw. blieben bei Zusatz dieses Serums klar; auch gab das Serum eines mit Schweine- und Rinderblut vorbehandelten Kaninchens in der betreffenden Flüssigkeit keine Reaktion. Auch normales, von nicht vorbehandelten Kaninchen stammendes Serum bewirkte keinerlei Trübung.

Zahlreiche, von verschiedenen Stellen an beiden Ärmelrändern hergestellte Blutlösungen ergaben dasselbe unzweideutige Resultat. Damit war bewiesen, daß die von mir untersuchten Blutflecken von Menschenblut herrührten. Die Untersuchnng eines in der Genitalgegend befindlichen Schmutzfleckens, sowie mehrerer schmutzig verwaschen aussehender Stellen an beiden Ärmeln, konnte das Vorhandensein von Blut nicht feststellen.

ad 2. Taschentuch.

Das äußerst schmutzige Taschentuch zeigt zahlreiche Löcher. Man sieht mehrfache, unregelmäßig gestaltete, kleine rotbraune, blutverdächtige Flecken, die zum Teil mit winzigen, rotbraunen Krusten bedeckt sind; diese werden in derselben Weise untersucht wie ad 1 beschrieben. Es konnte auch hier sowohl der chemische Nachweis von Blut als auch die Herkunft desselben — Menschenblut — bei zahlreichen von mir untersuchten Flecken mit Sicherheit erbracht werden.

ad 3 gelbbraune Hose.

An der geflickten Hose sieht man am rechten und linken Hosenbein zahlreiche verschieden große Löcher. Bis auf mehrere grauschwarze Schmutzflecken war bei oberflächlicher Besichtigung der Hose nichts zu finden, was für Blut hätte gehalten werden können. Jedoch ergab eine sehr genaue eingehende Betrachtung, daß am rechten und linken Hosenbein mehrere verwaschen aussehende, winzige rötliche Flecken zu konstatieren waren. Auch konnten mehrere hanfkorngroße, spritzerartige Krusten aufgefunden werden, die sich bei Anwendung der Guajak- und TEICHMANNschen Proben als Blut erwiesen. Da die einzelnen Fleckchen für die Bestimmung der Herkunft des Blutes zu wenig Material lieferten, wurden mehrere rötlichbraun gefärbte Flecken, die sich am linken Hosenbein vorfanden, in toto ausgelaugt und bezüglich Herkunft untersucht. Die biologische Reaktion war positiv, ein Beweis, daß sie von Menschenblut herrührten.

Die Untersuchung eines in der rechten Kniegegend befindlichen grauschwarzen verwaschenen Fleckens führt zu keinem positiven Resultat.

Auf Grund dieses Befundes ist es mit Sicherheit erwiesen, daß die von mir untersuchten Flecken von Blut und zwar von Menschenblut herrühren, da Affenblut nach den richterlichen Erhebungen auszuschließen ist.

gez. UHLENHUTH.

Auf Grund eines erdrückenden Indizienbeweises, bei welchem die Blutuntersuchung als wichtiger Faktor mit in Betracht kam, ist H. zum Tode verurteilt worden. Kurz vor der Hinrichtung hat er ein umfassendes Geständnis abgelegt.

24.

Der Untersuchungsrichter II am Kaiserlichen Landgerichte zu S.
J 1303/02.

Str., den 21. März 1902.

Haftsache.

In der Untersuchungssache gegen den Tagner K. M. aus G. und einen Genossen wegen Raubmordversuchs usw. beehre ich mich eine Hose und ein Hemd mit dem ergebenen Ersuchen zu übersenden, sich gefälligst gutachtlich darüber zu äußern:

1. ob die an der Hose an den verschiedenen Stellen (unten oben, vorn und hinten) befindlichen Blutflecken von Menschen- oder Tier-(Kuh-)Blut herrühren.

2. ob die an dem Hemd vorn und dem Hemdärmel außen und innen befindlichen Blutspuren von Menschen- oder Kuhblut herrühren.

Für den Fall, daß es Menschenblut sein sollte, ist dann anzunehmen, daß das Blut von Nasenbluten herrührt?

Ich übersende außerdem eine blutige Jacke der verletzten Frau M. aus Erstein, und bitte ich, sich darüber zu äußern, ob festzustellen ist, daß das Blut an der Jacke dasselbe wie dasjenige an der Hose ist, oder ob es verschieden ist.

Im Interesse der Fortsetzung der Voruntersuchung bitte ich, die Prüfung zu beschleunigen. Zur Vermeidung von Irrtümern bei Abfassung des Gutachtens gestatte ich mir nachstehendes zu bemerken:

Die Hose und das rötliche Hemd gehören dem angeblichen Täter M. Derselbe behauptet, das Blut an der Hose käme vom Nasenbluten, während die paar Flecken vorn an dem Hemd, sowie an dem Ärmel von Kuhblut herrühren sollen.

Die Eltern des Täters geben dagegen an, daß auch das Blut an der Hose Kuhblut sei und die Erde darüber von Schmutz aus dem Stalle komme. Die Eltern behaupten, eine Kuh habe das Horn verloren, wobei die Kuh stark geblutet habe.

Die mit Blut getränkte Jacke gehört dagegen der verletzten Frau, sie trug dieselbe bei der Verletzung. Die Jacke ist nur als Vergleichsstück beigelegt, um etwa zu sehen, ob vielleicht dieselbe Blutart an der Hose und der Frauenjacke vorliegt. Das Blut an der Frauenjacke bedarf aber keiner Untersuchung darüber, ob es Menschen- oder Tierblut sei.

A.

Gutachten.

In der Untersuchungssache gegen den Tagner K. M. aus G. und einen Genossen wegen Raubmordversuchs usw. sind mir auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Kaiserlichen Landgericht zu Str. i. E., Herrn Landgerichtsrat A., am 31./3. 02 unter J.-Nr. 1303/02 blutbefleckte Sachen übersandt mit dem Ersuchen, ein Gutachten darüber abzugeben, ob die betreffenden Blutflecken von Menschen- oder Tierblut (Kuhblut) herrühren.

Die mir übersandten und von mir untersuchten Sachen sind folgende:

1. Eine schwarz-weiße klein karierte Hose, dem angeblichen Täter M. gehörig,

2. ein weiß-rosa klein kariertes Hemd, dem angeblichen Täter M. gehörig,

3. eine rot-weiß-blau gestreifte Unterjacke, der verletzten Frau gehörig,

4. ein weißes baumwollenes strumpfartiges Gebilde.

Zu 1. Die schwarz-weiß karierte Hose ist an beiden Hosenbeinen außen überall bedeckt von sehr zahlreichen, bräunlichroten, linsen- bis markstückgroßen, unregelmäßig gestalteten Flecken. Solche Flecken finden sich besonders reichlich in der linken Kniegegend. Am unteren Rande des linken Hosenbeins und nach oben sich erstreckend — der inneren Knöchelgegend entsprechend — findet sich eine über handgroße braunrot gefärbte Stelle, die dicht über dem unteren Rande mit schmutzigen, zum Teil aus Erde bestehenden Massen bedeckt ist. Dieser Stelle entsprechend, sieht man auch an dem nach innen umgenähten Teil des unteren Hosenrandes ebensolche mit Erde bedeckte braunrote Flecken, die sich auch bis handbreit nach oben auf der Innenseite des Hosenbeins verfolgen lassen. Auch in der Genitalgegend sieht man am Schlitz unter dem untersten Hosenknopf mehrere zum Teil verwaschene bohnengroße, rötliche Flecken; die hintere Seite der Hose zeigt auffallend wenig solcher Flecken; es finden sich mehrere auf der rechten Gesäßhälfte.

Die Hosentaschen sind außen und innen frei von blutverdächtigen Flecken.

Gang der Untersuchung.

Obwohl es dem äußeren Anschein nach schon nicht zweifelhaft sein konnte, daß die rötlichbraunen Flecken von Blut herrührten, mußte dennoch durch die chemische Untersuchung der sichere Beweis erbracht werden. Von den verschiedensten Stellen wurden kleine Stückchen herausgeschnitten und diese zunächst der Guajak- oder Ozonprobe unterworfen. Es wurden einzelne der rotbraunen Fäserchen mit einem Glasstabe solange auf Fließpapier betupft, bis sie auf demselben rötlichbraune Spuren hinterlassen hatten. Nunmehr wurden diese Stellen mit sauerstoffhaltigem Terpentinöl und sodann mit alkoholischer Guajakharzlösung übergossen. Es trat sofort eine starke Blaufärbung auf, wie sie für das Vorhandensein von Blut charakteristisch ist. Es wurde ferner die Teichmannsche Probe angestellt: Winzige Partikelchen des blutverdächtigen Materials wurden mit einem Körnchen Kochsalz und einigen Tropfen Eisessig langsam verdampft. Nach einigen Minuten sah man dann unter dem Mikroskop die typischen Häminkristalle in Form von rhomboiden Täfelchen und einzelnen Körnchen. Durch den positiven Ausfall dieser Reaktion war der Nachweis von Blut in einwandsfreier Weise gesichert. Die weitere Frage war nun die: Handelt es sich um Menschenblut oder Tierblut, insonderheit um Kalbsblut, wie von den Eltern des Täter behauptet wird. Diese Frage konnte nunmehr durch Anwendung der von mir angegebenen Methode mit Sicherheit entschieden werden.

Die Methode beruht auf der Tatsache, daß das Blutserum eines mit dem Blut irgend einer Tierart wiederholt eingespritzten Kaninchens beim Zusatz zu der zur Einspritzung benutzten Blutlösung einen Niederschlag erzeugt. Ein mit Menschenblut wiederholt eingespritztes Kaninchen liefert ein Blutserum, welches nur in Menschenblutlösung einen starken Niederschlag erzeugt. Eine leichte Trübung entsteht auch in einer Affenblutlösung, die wohl forensisch nicht in Betracht kommt und wohl nur bei der Verwandtschaft des Menschen und Affen ein naturwissenschaftliches Interesse haben dürfte. Auch sonst kann man mit Hilfe dieser Reaktion die verwandtschaftlichen Beziehungen gewisser Tiere mit Sicherheit nachweisen.

Ein mit Schweineblut vorbehandeltes Kaninchen gibt einen Niederschlag nur in Schweineblutlösung. Ein mit Rinderblut vorbehandeltes Kaninchen gibt einen momentan starken Niederschlag in Rinderblut, eine leichte, später auftretende Trübung in Hammel- und Ziegenblut; eine Tatsache, die bei der zoologischen Verwandtschaft des Rindes mit der Ziege und dem Schaf erklärlich sein dürfte.

Von den verschiedensten Stellen wurden nun Stückchen des blutdurchtränkten Zeuges in physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt; die ganz leicht gelblich gefärbten Lösungen filtriert und dazu einige Tropfen des Serums des mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. In allen Röhrchen trat fast momentan eine starke Trübung auf, die sich bald als flockiger Niederschlag zu Boden setzte; die als Kontrollen dienenden, mit anderen Blutlösungen gefüllten Röhrchen blieben bei Zusatz desselben Serums völlig klar. In derselben Weise wurden Lösungen von den verschiedensten Stellen des Zeuges

mit dem Serum von Kaninchen versetzt, welche mit Kuhblut vorbehandelt waren. Diese Röhrchen blieben alle klar.

Es war also durch die Untersuchung der Beweis erbracht, daß die an der Hose und auch am unteren Rand derselben befindlichen Blutflecken sämtlich von Menschenblut und nicht von Kuhblut herrührten.

Im ganzen sind an der Hose 13 solcher Flecke untersucht worden.

Zu 2. Das rot-weiß karierte Hemd zeigt rechts und links am Schlitz zwischen den beiden obersten Knöpfen mehrere verwaschen aussehende stecknadelkopf- bis dreimarkstückgroße rotbräunliche Flecken. Ebenso beschaffene Flecken sieht man am linken Ärmel dicht über dem Ärmelschlitz neben der Längsnaht des Ärmels. Auch an der Außenseite der Ärmelmanschette ist ein 4,0 cm langer und 5,0 mm breiter braunroter Fleck zu sehen. Ebenso finden sich an der Innenseite der Ärmel dicht über den Manschetten zerstreut sehr feine, spritzerartige braunrote Flecken.

Von allen diesen oben erwähnten verdächtigen Stellen wurden Proben entnommen und genau so untersucht wie zu 1. ausführlich beschrieben.

Es zeigte sich, daß sie von Menschenblut herrührten. Kuhblut habe ich nirgends nachweisen können.

Zu 3. und 4. Die weibliche Unterjacke sowie das strumpfartige Gewebe sind fast völlig mit einer wie Blut aussehenden Masse so stark imprägniert, daß sie eine derbe Konsistenz an diesen Stellen darbieten.

Die von den verschiedensten Stellen entnommenen Proben erwiesen sich als Menschenblut. Auch hier ist Kuhblut nicht gefunden.

Auf Grund dieser Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab:

1. Die blutverdächtigen Flecken an der Hose, Hemd und Unterjacke, sowie an dem strumpfartigen Gewebe bestehen aus Menschenblut (da Affenblut auszuschließen).

2. Kuhblut habe ich an den Sachen nicht nachweisen können.

3. Ob die Flecken von Nasenbluten herrühren, läßt sich wissenschaftlich nicht feststellen.

4. Ebensowenig läßt sich nach dem heutigen Stande der Wissenschaft mit Sicherheit feststellen, ob die Blutflecke an der Unterjacke und den übrigen Sachen von derselben Person stammen.

Prof. Uhlenhuth.

Der in mehrfacher Hinsicht kriminalistisch sehr interessante Fall M. ist im Archiv für Kriminalanthropologie und Kriminalstatistik (Okt. 1902) von Herrn Staatsanwalt Rosenberg ausführlich veröffentlicht. Ich möchte auf diese Arbeit verweisen, hier nur kurz hervorheben, daß der wegen Mordes beschuldigte Karl M. nach langem Leugnen schließlich die Tat eingestanden hat. Die von mir untersuchten Sachen hat er bei Begehung der Tat angehabt; die Hose habe er, als er sah, daß sie von oben bis unten mit Blut besudelt war, in einem Schranke versteckt. Mein Gutachten hat also in diesem Falle in der Voruntersuchung bei der Erforschung der Wahrheit sehr wertvolle Dienste geleistet, indem durch den Befund von Menschenblut an der bei dem M. aufgefundenen in dem Schranke verborgenen Hose, der Verdacht, der zuerst auf mehreren anderen Personen ruhte, auf den M. mit erdrückender Wucht gewälzt wurde, zumal da durch meine Untersuchung gleichzeitig festgestellt wurde, daß er und seine Angehörigen gelogen hatten, denn Kuhblut war an seinen Kleidern nicht vorhanden.

25.

Der Untersuchungsrichter bei dem Kaiserlichen Landgerichte zu S. — S., den 26. Nov. 1903.

J.-No. 1980/03.

Haftsache.

Anliegend übersende ich eine braune Joppe, gehörig dem wegen Raubmords verfolgten Krämer M. aus W., welche anscheinend Blutspuren ent-

hält. Ich ersuche ergebenst um gefällige Abgabe eines Gutachtens darüber, ob die fraglichen Spuren von Tier- oder Menschenblut herrühren.

Ich bemerke, daß der fragliche Raubmord am 20. d. Mts. geschehen ist. Eine Beschleunigung des Gutachtens wäre erwünscht, und bitte ich um gefällige Angabe, bis wann dasselbe erfolgen kann, desgleichen um eventuell telegraphische Mitteilung, falls Euer Hochwohlgeboren das Gutachten etwa nicht abgeben könnten.

v. H.

Gutachten:

Auf Veranlassung des Untersuchungsrichters bei dem Kaiserlichen Landgericht S. ist mir in der Strafsache gegen Anton M. wegen Raubmord, am 3./12. 03 eine braune Joppe zugesandt mit dem Ersuchen festzustellen, ob die fraglichen Blutflecken auf den Ärmeln von Menschen- oder Tierblut herrühren.

Die äußere Besichtigung der Joppe ergab folgenden Befund:

Auf der Außenseite des rechten Ärmels sieht man handbreit oberhalb des sich am unteren Ende des Ärmels befindlichen Knopfes einen etwa bohnengroßen roten Fleck, der mit trocknen roten Krusten bedeckt ist. 4 cm oberhalb dieses Fleckes befindet sich eine schwach rötlich gefärbte Stelle von etwa Erbsengröße. Beide Flecken sehen so aus, als ob sie von Blut herrührten.

Der Ausfall der chemischen Reaktion mußte darüber Gewißheit verschaffen.

(Es folgt Beschreibung der üblichen chemischen Reaktionen.)

Nachdem somit die chemische Untersuchung ergeben hatte, daß die blutverdächtigen Flecken in der Tat von Blut herrührten, konnte zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden.

Sie erfolgt nach der von mir angegebenen und in die gerichtliche Praxis eingeführten Methode.

Da es sich um einen Raubmord handelte, kam in erster Linie der Nachweis von Menschenblut in Frage.

Es wurde von den beiden mit Blut befleckten Stellen des Ärmels ein kleines Stückchen herausgeschnitten und in physiologischer NaCl-Lösung längere Zeit ausgelaugt. Man erhielt dann eine schwach gelblich gefärbte, beim Schütteln stark schäumende Flüssigkeit, die, um sie völlig klar zu machen, zunächst filtriert wurde. Sodann wurde zu ca. 2,0 ccm solcher Flüssigkeit ein gewisses Quantum (0,1 ccm) von spezifischem Blutserum d. h. von Blutserum eines längere Zeit mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Es trat sofort eine Trübung auf, welche sich bald als flockiger Niederschlag zu Boden setzte, während sämtliche zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen der verschiedensten Tiere beim Zusatz des spezifischen Serums vollkommen klar blieben. Auch normales Blutserum von Kaninchen rief eine Trübung in dieser Lösung nicht hervor. Die Untersuchung von schon äußerlich nicht wie Blutflecken aussehenden braunen Stellen führte zu keinem positiven Resultat.

Es war also durch die spezifische Reaktion mit absoluter Sicherheit erwiesen, daß die beiden oben beschriebenen von mir untersuchten Blutflecken von Menschenblut herrührten.

Auf Grund des vorstehenden Befundes lautet mein Gutachten folgendermaßen:

Die beiden von mir untersuchten roten Flecken an dem rechten Ärmel der Joppe rühren von Blut, und zwar von Menschenblut (wenn Affenblut auszuschließen), her. Weitere Blutflecken lassen sich an der Joppe nicht nachweisen. Prof. Uhlenhuth.

Der Verhandlung vor dem Schwurgericht in T. wohnte ich bei. Dabei ergab sich folgendes: M. war beschuldigt, den Kutscher eines Petroleumwagens meuchlings ermordet und beraubt zu haben.

Was die von mir untersuchten Blutflecken betrifft, so waren dieselben gleich bei seiner Festnahme von dem betreffenden Gendarm bemerkt und als ganz frisch bezeichnet worden. M. behauptete, sie rührten von Fleisch her, das er in S. gekauft habe.

Es war nun außerordentlich interessant, daß M., nachdem ich in meinem Gutachten erklärt hatte, diese Flecken bestünden aus Menschenblut, seine frühere Behauptung plötzlich fallen ließ und nunmehr angab, er sei vor ca. 14 Tagen mit dem Rade gestürzt und habe am linken

Ellenbogen geblutet, die Blutflecken könnten also davon herrühren. Auch habe er öfters Nasenbluten gehabt. Diese auf Grund meines Gutachtens wenig glaubhafte schnell erfundene Deutung, bei der er eine große Verlegenheit nicht unterdrücken konnte, wirkte für ihn schwer belastend. Als man ihm das auch vorhielt, meinte er: „Man kann nicht alles so im Kopf behalten, es falle einem nicht immer alles ein".

26.

Der Untersuchungsrichter I am Kaiserlichen Landgericht in M.
J.-No. 436/04.

M., den 18. März 1904.

Haftsache.

In der Untersuchung gegen Camille Bl., Schlosser in M., wegen Mordes, übersende ich dem Institut beiliegende Stoffschnitte nebst den zugehörigen Kleidern, eine Mütze, ein Wischtuch, einen blauseidenen Beutel, sowie ein Messer, mit dem ergebensten Ersuchen, diese Gegenstände sobald als tunlich auf Menschenblut untersuchen zu wollen.

Ich bemerke noch ergebenst, daß die Sache voraussichtlich in der im April d. J. stattfindenden Schwurgerichtssession zur Verhandlung kommen soll.

Bezüglich des etwaigen Alters der Blutflecken wird vielleicht die Tatsache zur Orientierung dienen, daß der Mord (an einer 74jährigen Frau) am 30. Jan. 1904 verübt worden ist.

W., Landgerichtsrat.

Gutachten:

Auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Kaiserlichen Landgericht M. sind mir am 23./3. 04, J.-No. 436/04 in der Untersuchungssache gegen Camille Bl. aus M. wegen Mordes folgende Sachen zur Untersuchung auf Menschenblut übersandt:

1. eine graukarierte Hose,
1a. Ausschnitt aus dem Beinkleid (Kuvert),
2. eine braune Weste
3. ein ebensolcher Rock } dazu Kleiderstoffteile (Kuvert),
4. eine blaue Leibbinde,
5. eine Schirmmütze,
6. ein blauseidener Beutel (im Kuvert),
7. ein Wischtuch,
8. ein Schlachtmesser mit hölzernem Griff.

Auf dem Stoff der linken Hosentasche sieht man, nachdem dieselbe nach außen umgekrempelt ist, einen bohnengroßen, verwischt aussehenden, blutrot gefärbten Fleck von unregelmäßiger Gestalt. Dieser Fleck wird herausgeschnitten.

Wenn dieser Fleck auch schon, nach dem äußeren Aussehen zu urteilen, höchstwahrscheinlich von Blut herrührte, so konnte doch erst die chemische Untersuchung darüber sicheren Aufschluß geben.

Es folgt Gang der Untersuchung wie oben: Guajakprobe, Teichmannsche Haeminprobe positiv.

Es konnte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft dieses Blutes geschritten werden.

Diese erfolgt nach dem von mir angegebenen Verfahren (Beschreibung wie oben).

Durch den positiven Ausfall dieser spezifischen Reaktion war der sichere Beweis erbracht, daß das nachgewiesene Blut Menschenblut war.

Im übrigen zeigte die Hose bei der äußeren Besichtigung nirgends grobsinnlich wahrnehmbare blutverdächtige Flecken.

An beiden Hosenbeinen sah man noch an den verschiedensten Stellen schmutziggraue, zum Teil schwarz und gelblich erscheinende, ganz verwaschen aussehende Flecken.

Auch diese wurden einer genauen Untersuchung unterzogen, und zwar in der oben angeführten Weise. Jedoch konnte Blut an keiner Stelle nachgewiesen werden.

Auch an den in einem Kuvert beigefügten Zeugstückchen, an denen noch einige graugelbliche Flecken zu sehen waren, konnte selbst bei wiederholter eingehender Untersuchung Blut nicht nachgewiesen werden.

ad 2. Die Besichtigung der Weste läßt nirgends einen blutverdächtigen Fleck erkennen.

Es werden einige grauschwarze Schmutzflecke untersucht. Blut läßt sich an keiner Stelle nachweisen.

ad 3. Auch an dem Rock, der auch irgendwie blutverdächtige Flecken an keiner Stelle erkennen läßt, kann trotz sorgfältiger Untersuchung zahlreicher schmutziggrauer Stellen Blut nicht nachgewiesen werden.

ad 4. An der blauen Leibbinde sind mehrere gelbbraune Stellen sichtbar, die auch äußerlich nicht aussehen, als ob sie von Blut herrührten. Das von ihnen abgekratzte Material ergab weder bei chemischer, noch mikroskopischer Untersuchung das Vorhandensein von Blut.

Dasselbe negative Resultat wurde mit den in einem Kuvert beigefügten ausgeschnittenen blauen Zeugstückchen erzielt.

ad 5. Die Schirmmütze ließ nirgends einen blutverdächtigen Fleck erkennen.

ad 6. Der blauseidene Beutel zeigte zwei etwa erbsengroße grauschwarzbraune Flecken, die bei der chemischen Untersuchung den Nachweis von Blut nicht ergaben.

ad 7. Das mit schwarzgrauen Schmutzflecken reichlich bedeckte Wischtuch ließ zahlreiche mattgelbe, an einzelnen Stellen rötlich erscheinende Flecken erkennen von der verschiedensten Größe und Gestalt. Diese gelblichen Stellen waren hart und das Gewebe an diesen Stellen steif, sie sahen zum Teil wie verwaschen aus.

Die vorgenommene chemische Untersuchung — sowohl die Guajak- wie die Teichmannsche Probe — fiel positiv aus, ein Beweis dafür, daß sie von Blut herrühren mußten.

Es wurde nun versucht die Flecken mit physiologischer NaCl- und auch mit 0,1 proz. Sodalösung auszulaugen, um die für die spezifische Reaktion notwendige Flüssigkeit zu erhalten. Trotz vielfach wiederholter über mehrere Tage fortgesetzter Versuche konnte eine Auslaugung nicht erzielt werden. Man gewann nur eine ganz trübe schmutziggraue Flüssigkeit, die beim Schütteln keine Schaumbildung zeigte, ein Zeichen, daß Eiweiß nicht in Lösung gegangen war. Es war daher nicht möglich, mit dieser nach Filtration völlig klaren wässerigen Flüssigkeit die Herkunft des Blutes mit Hilfe der spezifischen Reaktion auszuführen. Ich nehme an, daß durch irgend einen Eingriff, z. B. durch Einlegen in kochendes Wasser, die Eiweißkörper koaguliert und unlöslich geworden sind. Eine andere Erklärung vermag ich nicht zu geben.

ad 8. Das Schlachtmesser zeigte an den verschiedensten Stellen Rostflecke von verschiedenster Größe. An der einen Seite der Klinge sah man einen 1,0 cm langen unregelmäßig gestalteten graugelbrötlichen Streifen, der dem Messer fest anklebte.

Dieser wurde zunächst untersucht. Die Guajak- und Teichmannsche Probe mit einigen Partikelchen dieser Masse ausgeführt, fiel positiv aus, so daß man daraus auf das Vorhandensein von Blutfarbstoff schließen mußte. Es wurde nunmehr dieser gelbe Streifen bezüglich seiner Eiweißkörper in physiologischer Kochsalzlösung zu lösen gesucht. Die so entstandene stark eiweißreiche Flüssigkeit wurde sodann mit dem Blutserum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens versetzt. Eine Trübung trat nicht auf. Es handelte sich also nicht um menschliches Blut. Die mikroskopische Untersuchung des ausgelaugten Streifens ließ quergestreifte Muskelfasern deutlich erkennen. Man hatte es also hier offenbar mit einem mit Blutfarbstoff durchtränkten Muskelgewebe zu tun, welches nicht von Menschen, sondern von Tieren herrühren mußte.

Von welcher Tierart es stammte, konnte wegen Mangel an weiterem Material nicht entschieden werden. Auch konnten Menschenblutflecke weder an den übrigen Teilen der Klinge noch des Schaftes aufgefunden werden.

Das Resultat dieser Untersuchung ist also folgendes:

1. An dem Stoff der einen linken Hosentasche konnte Blut, und zwar Menschenblut (wenn Affenblut auszuschließen) nachgewiesen werden.

2. An dem Schlachtmesser konnte Muskel-(Fleisch)gewebe, welches mit Blutfarbstoff durchtränkt war, nachgewiesen werden. Dasselbe rührte nicht von Menschen, sondern von Tieren her.

3. An den übrigen Sachen konnte Blut nicht festgestellt werden bis auf das Wischtuch, an welchem Blutflecken nachzuweisen waren, deren Herkunft jedoch wegen ihrer Unlöslichkeit nicht ermittelt werden konnte. Prof. UHLENHUTH.

Der Verhandlung vor dem Schwurgericht in M. wohnte ich als Sachverständiger bei.

Für den Blutfleck in der Hosentasche hatte Bl. in der Voruntersuchung eine befriedigende Erklärung nicht abgeben können. Anfangs behauptete er, er habe Kaninchen geschlachtet, später, nachdem er Kenntnis von meinem Gutachten erhalten hatte, gab er an, er habe einen Streit gehabt, bei welchem Blut geflossen wäre. Die von dem Beschuldigten angeführten Zeugen erklären diese Aussagen jedoch für unwahr.

Bl. legte nun gleich beim Beginn der Schwurgerichtsverhandlung, nachdem er bis dahin hartnäckig alles geleugnet hatte, ein umfassendes Geständnis ab. Bezüglich der Blutflecke in der linken Hosentasche gab er an, er habe sich beim Erdrosseln der Frau X., als er ihr die Hand in den Mund steckte, an ihren Zähnen verletzt und die leicht blutende Hand in der linken Hostentasche abgewischt. Was das Schlachtmesser betrifft, so konnte nachgewiesen werden, daß es bei der Ausführung des Mordes nicht benutzt wurde. Es war nur Fleisch mit demselben geschnitten worden. Über das Wischtuch konnten Angaben nicht gemacht werden. Mein Gutachten wurde also in jeder Weise bestätigt.

27.

Der Untersuchungsrichter beim Königlichen Landgericht Tr.
U. R. 141/03.

Tr., den 17. Januar 1904.

Haftsache.

In der Untersuchungssache gegen Heinrich P. aus Italien wegen Raubmordes, Aktenzeichen 4 J.-No. 1914/04, beehre ich mich in einem nachfolgenden Paket zu übersenden:

1. einen Rock,
2. eine Weste,
3. eine Hose,
4. ein Vorhemd,
5. zwei Handtücher,
6. ein Dolchmesser,
7. zwei kleine Taschenmesser,
8. ein Paar Schuhe,

mit dem ergebensten Ersuchen, diese Gegenstände gefälligst daraufhin untersuchen zu wollen, ob Blutspuren von Menschenblut sich an denselben befinden und an welchen Stellen.

In den anliegenden sieben Umschlägen befinden sich Stückchen Stoff, welche von einem Sachverständigen aus den Kleidern an befleckten Stellen herausgeschnitten und bereits untersucht worden sind.

P., welcher beschuldigt ist, am 1. November 1903 einen Mord begangen zu haben, kam am Abend dieses Tages mit blutbefleckten Kleidern nach Hause. Die Blutflecken an den Kleidern sollen nach seiner Behauptung von Nasenbluten herrühren. Etwaige Blutflecken an den Messern sollen daher rühren, daß damit ein Stück rohes Tierfleisch zerschnitten worden ist. Die Flecken auf dem rechten Arm und der Schulter des Rockes sollen rote Farbe sein und daher rühren, daß der Beschuldigte sich in der Kirche an einen angestrichenen Pfeiler angelehnt habe. Die rötlichen Flecken in dem einen Handtuch sollen von dem roten Sandstein herrühren, der sich im Tunnel der Eisenbahn bei K., der Arbeitsstelle des P., vorfinden soll.

Von besonderem Interesse sind die Flecken an den Messern und die an den Kleidern, insoweit sie sich an solchen Stellen befinden, die infolge des Nasenblutens nicht oder nicht leicht befleckt werden konnten, so z. B. die Flecken am Innenfutter des linken Rockärmels.

Ich bitte die Untersuchung nach Möglichkeit beschleunigen und das Resultat gefälligst bald mir mitteilen zu wollen. W., Landgerichtsrat.

Gutachten.

In der Untersuchungssache gegen Heinrich P. aus Italien wegen Raubmordes sind mir auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Königlichen Landgericht T. (Aktenzeichen 4 J 1914/03) verschiedene Objekte übermittelt, mit dem Ersuchen, sie daraufhin zu untersuchen, ob Blutspuren von Menschenblut sich an ihnen befinden und an welchen Stellen. Die in einem Paket übersandten Sachen waren folgende: 1. Rock, 2. Weste, 3. Hose, 4. Vorhemd, 5. zwei Handtücher, 6. ein Dolchmesser, 7. zwei kleine Taschenmesser, 8. ein Paar Schuhe. Ferner wurden in einem Brief übersandt sieben Umschläge mit Stückchen Stoff, welche von einem Sachverständigen bereits untersucht sind. Diese Umschläge waren numeriert.

Ich bemerke hierzu, daß sich Umschlag I bei der Besichtigung als leer erwies.

ad 1. Rock. Äußere Besichtigung:

Der Rock zeigt äußerst zahlreiche braunrötliche Flecken von verschiedenster Größe und Gestalt.

Rechte Rockhälfte. Auf der rechten Schulter sieht man zahlreiche linsen- bis bohnengroße rote Flecken, die sofort den Verdacht erwecken, daß sie von Blut herrühren; außer diesen scharf begrenzten Flecken sieht man gelblichbräunliche verwischt aussehende Flecken, die ohne scharfe Grenze ineinander übergehen.

Besonders deutlich sind derartige Flecken am Ansatz des rechten Ärmels an die Schulter wahrzunehmen, sodann sieht man sie über die Außenseite des ganzen rechten Ärmels zerstreut an der dem Körper zugewandten und auch dem Körper abgewandten Seite. Nach unten — dem Ärmelende zu — nehmen diese blutverdächtigen Spuren an Größe und Deutlichkeit zu und erstrecken sich auch auf das gestreifte Innenfutter des Ärmels bis handbreit nach oben. Während auf der rechten Brustseite blutverdächtige Stellen nicht wahrzunehmen sind, sieht man solche wiederum sehr deutlich auf der unteren Hälfte der rechten Rockseite, besonders in der Umgebung der kleinen Billettasche und auch der unteren Rocktasche von dieser sich nach vorne zu erstreckend.

Die rechte Hälfte des Rockkragens zeigt auf der Außenfläche mehrere sehr deutliche erbsengroße braune Flecken in der Umgebung des sich dort befindlichen Schlitzes, im übrigen auch gelbrötliche verwischt aussehende Stellen. Auffallend ist ein Fleck dicht neben der rechten Schulternaht 5 cm vom Rockkragen entfernt, ferner ein linsengroßer, mit roten Krusten bedeckter Fleck 3 cm unterhalb der Schulternaht auf dem Rückenstück des Rockes 5 cm vom Ärmelansatz entfernt. Dieser Fleck sieht wie ein Spritzer aus. Das Rückenstück ist im übrigen frei von verdächtigen Spuren. Frei ist auch die linke Hälfte des Rockkragens sowie die linke Schulter.

Dagegen sieht man ausgedehnte blutverdächtige Flecken in der ganzen Umgebung der linken äußeren Brusttasche und von da handbreit nach vorn und auch unten sich erstreckend.

Auch auf der Klappe der linken unteren Rocktasche ist eine 1 cm lange unregelmäßig gestaltete rote Stelle sichtbar. Der linke Ärmel ist oben weniger wie rechts mit zahlreichen rotgefärbten Flecken bedeckt, sowohl an der Außenseite, wie an der dem Körper zugewandten Seite; eine sehr große blutverdächtige Stelle nimmt fast das ganze untere Drittel der dem Körper zugewandten Seite des linken Ärmels ein und erstreckt sich in geringerer Ausdehnung über die Umschlagstelle des Ärmelrandes nach innen zu, wo sich das Ärmelfutter ansetzt. Auf diesem selbst sind blutverdächtige Flecken nicht zu erkennen.

Auch das schwarze Rockfutter weist blutverdächtige Stellen nicht auf.

Im übrigen sieht man an dem Rock verschiedene Löcher, die offenbar davon herrühren, daß zur Untersuchung bereits Material herausgeschnitten ist.

Zahlreiche der hier beschriebenen Flecken wurden nunmehr eingehend untersucht:

Hier folgt Gang der Untersuchung wie gewöhnlich: Guajak-, Teichmannsche Probe fällt positiv aus; ebenso die biologische Reaktion auf Menschenblut. Die Flecken rühren also von Menschenblut her.

ad 2. Weste. Der untere Teil des Westenkragens zeigt auf beiden Seiten rötliche, verwaschen aussehende Stellen.

Dicht unterhalb des Kragens sieht man auf der rechten Hälfte der Weste einen fünfmarkstückgroßen intensiv rot gefärbten Fleck, der zum Teil mit angetrockneten roten Krusten bedeckt ist. Während innen die rechte Westenhälfte vorn nur ganz vereinzelte gelblichrote Flecken erkennen läßt, sieht man die ganze linke Vorderseite der Weste, besonders die Umgebung der linken unteren Westentasche, mit rötlichen, verschwommen aussehenden Stellen bedeckt. Die obere Partie, sowie das hintere Stück der Weste sind beiderseits frei.

Auch das Westenfutter ist frei bis auf einen gelblichen Fleck am Ansatz des linken Futterrandes in Höhe des ersten Knopfloches.

Sämtliche blutverdächtigen Stellen wurden genau in derselben Weise untersucht wie unter 1. beschrieben. Das Resultat war das gleiche. Die Flecken bestanden aus Blut, und zwar aus Menschenblut.

ad 3. Hose. Das linke Hosenbein zeigt in seinen zwei oberen Dritteln vorn eine gelblichrötliche Verfärbung, die besonders deutlich oderhalb der Kniegegend in die Erscheinung tritt. Auch in der Umgebung des Hosenschlitzes ist diese Verfärbung in großer Ausdehnung sehr deutlich zu sehen, links mehr wie rechts. Dicht neben dem unteren Hosenknopf sieht man einen erbsengroßen blutroten Fleck. An der dem rechten Bein zugekehrten Seite des linken Hosenbeins befinden sich mehrere streifige rötliche Flecken. Auch das rechte Hosenbein ist in seinem oberen Drittel gelblichrot verfärbt, jedoch bedeutend weniger wie das linke. Die Umgebung der rechten Hosentasche zeigt in großer Ausdehnung, besonders nach dem Futter zu, eine blutverdächtige Färbung, in geringer Ausdehnung auch die linke Hosentasche. Die Untersuchung dieser blutverdächtigen Flecken ergab auch wiederum die Anwesenheit von Menschenblut.

ad 4. Vorhemd. Dicht unterhalb der aus dem Vorhemd herausgeschnittenen Stelle findet sich ein eben sichtbarer winziger Fleck, der sich bei Ausführung der chemischen Reaktion als Blutfleck erwies. Die Herkunft dieses Blutfleckens konnte nicht ermittelt werden, da nach Ausführung der chemischen Proben das Material vollkommen verbraucht war.

ad 5. Zwei Handtücher.

a) weißes Handtuch.

Das offenbar frisch gewaschene Handtuch zeigt an mehreren Stellen rostfarbene, sowie auch rötliche Flecken. Guajakprobe negativ. Es war also Blut nicht nachzuweisen.

b) rotblau gestreiftes Handtuch.

Man sieht zahlreiche große, zum Teil streifige, rotbraun gefärbte Flecken, die so aussehen, als ob sie von Farbe oder dgl. herrührten. Die Guajakprobe ist negativ. Blut also nicht nachweisbar.

ad 6. Dolchmesser. Sowohl an der Klinge wie am Schaft befinden sich zahlreiche rötlichbraune, rostartige Stellen, deren chemische Untersuchung die Anwesenheit von Blut nicht ergibt.

ad 7. Zwei kleine Taschenmesser. Auch sie zeigen nur rostähnlich aussehende Flecken, deren Untersuchung ebenfalls ebensowenig das Vorhandensein von Blut feststellt.

ad 8. Ein Paar Schuhe. Sie sind besonders an den Fersen und unter der Sohle mit reichlichen Mengen locker anhaftender roter Erde bedeckt. Durch die Untersuchung läßt sich der Nachweis von Blut nicht erbringen.

An den in Umschlag IV, V und VI befindlichen Zeugstückchen lassen sich einzelne Menschenblutflecken nachweisen.

Auf Grund vorstehender Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab:

1. An Rock, Weste und Hose finden sich zahlreiche Blutflecken, die von Menschenblut (wenn Affenblut auszuschließen) herrühren, an den Handtüchern, dem Dolchmesser, den zwei Taschenmessern und an den Schuhen hat sich Blut nicht nachweisen lassen. Am Vorhemd war ein Blutfleck nachzuweisen, dessen Herkunft wegen der Winzigkeit des Materials nicht ermittelt werden konnte.

2. An den in Umschlag IV, V und VI befindlichen Zeugstückchen wurde ebenfalls Menschenblut nachgewiesen.

3. Sämtliche rote Flecken auf der rechten Schulter des Rockes sowie die untersuchten Flecken des rechten Ärmels rühren von Menschenblut her und nicht von roter Farbe.

4. Ob die rötlichen Flecken in dem einen Handtuch von rotem Sandstein herrühren, konnte nicht festgestellt werden.

5. Ob die Blutflecken von Nasenbluten herrühren, ist auf Grund der Untersuchung nicht zu entscheiden, jedoch ist es unwahrscheinlich, daß der Flecken auf der Schulter durch Nasenbluten verursacht ist. Prof. Dr. Uhlenhuth.

Die Verhandlung, zu der ich als Sachverständiger geladen war, fand am 14. März 1904 vor dem Schwurgericht in T. statt.

Mein Gutachten bestätigt also die Angabe des Angeklagten, daß die Flecken von Menschenblut (Nasenbluten) herrühren und hatte ferner noch eine gewisse Bedeutung insofern, als auch die Flecken im Innenfutter des linken Ärmels und auf der Schulter, die der Angeklagte als Farbenflecken bezeichnete, als Menschenblutflecken erkannt wurden.

Der Angeklagte wurde, da der Indizienbeweis im übrigen nicht zwingend genug war, freigesprochen.

28.

Der Untersuchungsrichter beim Königlichen Landgericht Neu-R. Neu-R., 16. April 1902.

Haftsache.

Dem Herrn Direktor des hygienischen Instituts der Universität Greifswald ergebenst übersandt, mit dem Ersuchen, in der Strafsache wider L. und Genossen wegen Raubmordes in J. die als Postpaket nebenhergehenden Stücke, nämlich

drei Hemden und ein Taschentuch

dem Herrn Stabsarzt Dr. Uhlenhuth zu übergeben, damit er sie daraufhin untersuche, ob sie Menschenblut enthalten. Bei den Hemden käme besonders die Genitalgegend in Betracht. Das Blut würde aus dem November oder Oktober v. Js. stammen.

Ich ersuche um Beschleunigung, so daß ich die Sache mit dem schriftlichen Gutachten möglichst zu Anfang des künftigen Monats erhalte. gez. S.

Gutachten.

Auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Königlichen Landgericht zu Neu-R. sind mir in der Strafsache wider L. und Genossen in J. am 17./4. 02, J.-No. 3 J 1198/01 (1212) B 377 drei Hemden und ein Taschentuch übersandt, mit dem Ersuchen, ein schriftliches Gutachten darüber abzugeben, ob sie Menschenblutflecken enthalten.

ad 1. Hemd I, bezeichnet: „Hemd des W., welches dieser hinter der Holztruhe hervorholte (feucht)“. Das Hemd zeigt außen und innen große gelbbräunliche Schmutzflecken, besonders am Hemdkragen und auf der Rückenseite. Außerdem sieht man am unteren Ende der rechten und linken Seitennaht, dicht oberhalb des hier befindlichen Schlitzes, besonders deutlich auf der Innenseite des Hemdes, stecknadelkopf- bis fünfmarkstückgroße, ziemlich scharf umgrenzte, zahlreiche rötlichbraune, blutverdächtige Flecken. Vereinzelte ebenso aussehende kleine stecknadelknopfgroße Flecken befinden sich an den seitlichen Partien des Hemdes, mehr nach oben zu.

Es folgt der Gang der Untersuchung wie oben: Guajak- und Teichmannsche Probe positiv.

Durch den positiven Ausfall dieser chemischen Reaktionen war der sichere Beweis geliefert, daß die untersuchten Flecken von Blut herrührten.

Es mußte nunmehr entschieden werden, ob diese Blutflecken Menschenblut enthielten oder nicht.

Da jeder einzelne Fleck für die Untersuchung zu wenig Material lieferte, wurden immer mehrere Blutflecken gleichzeitig mit physiologischer (0,8 proz.) Kochsalzlösung längere Zeit ausgelaugt, bis eine schwach gelblich gefärbte, ganz dünne Lösung entstanden war. Diese wurde filtriert, und nunmehr wurden einige Tropfen von meinem spezifischen Serum zum Nachweis von Menschenblut zugesetzt. Schon nach wenigen Sekunden trat in den aus den Blutflecken hergestellten Lösungen eine starke Trübung auf, während die zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen der verschiedensten Tiere klar bleiben. Es handelte sich also um Menschenblut.

ad 2. Wollenes Hemd mit blauen Längsstreifen, bezeichnet: „Hemd, welches W. bei der Festnahme an hatte."

An dem stark, besonders am Kragen und Ärmelrand beschmutzten Hemd sieht man auf der Innenseite der linken Hälfte des Brustschlitzes dicht neben dem Saum etwa 10 sehr kleine, zum Teil punktförmige, mit winzigen rotbraunen Krusten bedeckte Flecken; ebensolche Flecken sieht man zerstreut an der Innenseite des linken Ärmels. Zwei solcher Flecken finden sich 20 cm oberhalb des unteren Hemdensaums, etwa der Genitalgegend entsprechend. Die Untersuchung dieser blutverdächtigen Stellen wird in genau derselben Weise, wie ad 1 beschrieben, vorgenommen. Guajak- und Teichmannsche Probe fallen positiv aus; die von mir angegebene Serumprobe ist ebenfalls positiv, ein Beweis, daß die Flecken Menschenblut enthalten.

ad 3. Baumwollenes Hemd, bezeichnet: „Hemd in den Anlagen bei S. gefunden, angeblich K. gehörig".

Dieses Hemd ist von Schmutzflecken völlig durchsetzt; an beiden Ärmeln, am Kragenrand und in der Aftergegend, die außerdem mit Kot stark besudelt ist, sieht man einzelne violett gefärbte Stellen. Von den verschiedensten Stellen des Hemdes wurden Proben entnommen und mit Hilfe der Guajakprobe auf Blutfarbstoff untersucht. Die Reaktion fiel stets negativ aus. Es war also an dem Hemde Blut nicht nachweisbar.

ad 4. Taschentuch, bezeichnet: „Taschentuch in den Anlagen bei S. gefunden".

Es ist mit grauschwarzen Flecken bedeckt, die von vornherein schon nicht den Verdacht auf Blutflecken hervorrufen. Trotzdem werden zahlreiche Proben herausgeschnitten und der Guajakreaktion unterzogen. Die letztere fiel stets negativ aus, wodurch bewiesen wird, daß diese Flecken nicht von Blut herrühren.

Auf Grund der von mir angestellten Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab:

1. An den ad 1 und 2 näher bezeichneten Hemden befinden sich zahlreiche kleine Blutflecken, die Menschenblut (wenn Affenblut auszuschließen) enthalten.

2. An den ad 3 und 4 näher bezeichneten Sachen sind Blutflecken nicht nachzuweisen. Dr. Uhlenhuth.

Der Mann, dessen Hemden hier untersucht wurden, war beschuldigt, eine Frau ermordet zu haben. Der Befund von Menschenblutflecken war geeignet, diesen Verdacht zu bestärken. Doch wurde im Laufe der weiteren Untersuchung angenommen, daß diese Flecke in der Genitalgegend von Hemd 2 infolge Verletzung bei einer Kohabitation, die übrigen von sonstigen Verletzungen herrühren sollten. Mangels weiterer genügender Beweise wurde das Verfahren eingestellt.

29.

Der Erste Staatsanwalt bei dem Königlichen Landgericht Gr.
2. J. 429/9/01.

Gr., den 7. Juni 1901.

Haftsache.

Ermittlungsverfahren wider W.

29. Anliegende Asservate übersende ich mit dem Ersuchen, die Messer und die Kleidungs- und Wäschestücke) namentlich Manschetten) auf Spuren von Menschenblut zu untersuchen. Ich bitte die Asservate in den mitgegebenen Umhüllungen zu belassen. H.

Gutachten.

Auf das Ersuchen des Ersten Staatsanwalt bei dem Königlichen Landgericht zu Greifswald vom 7. Juni 1901, Aktenzeichen 2. J 429/9/01, habe ich in dem Ermittelungsverfahren wider W. folgende Kleidungs- und Wäschestücke, Messer, Manschetten auf Spuren von Menschenblut untersucht.

1. Sachen des S. (Umhüllung A) und zwar folgende:

1 Büchse mit Vaselin, 1 Band, 1 Überzieher, 1 Hose, 1 Weste, 1 Schlapphut, 1 Chemisett, 1 Schlips, 1 Paar Manschetten, 1 Kragen, 1 Streichholzschachtel.

2. Sachen des W. (Umhüllung B):

1 Hut, grün, 1 Hose, braun, 1 Weste, braun, 1 Jackett, braun, 1 Überzieher, blaugrau, 1 Vorhemd, weiß, 2 Kragen, weiß, 1 Paar Stulpen mit Knöpfen, weiß, 1 Schlips, schwarz, 1 Paar Glacehandschuhe, braun, 2 Taschentücher, weiß, gez. FW., 1 Paar Gummihosenträger, grau, 2 Messer.

ad 1. Sachen des S.: Die Sachen des S. wurden zunächst einer eingehenden Besichtigung unterzogen. Dabei ergab sich folgendes:

Hose: Dicht über dem Spalt in der Genitalgegend auf der rechten Seite zwischen den zwei untersten Hosenknöpfen sieht man deutlich rotgefärbte und etwas unregelmäßig verwaschene Stellen, die etwa 2 cm über den zweituntersten Knopf nach oben hinausragt. Im ganzen ist diese verfärbte Stelle etwa 8 cm lang und 3 cm breit. Dementsprechend findet sich eine nicht ganz so große, rötlich aussehende Stelle auf der Knopflochseite. Während diese Flecken bei zugeknöpfter Hose von außen nicht sichtbar sind, findet sich in gleicher Höhe ein ca. 2 cm langer unregelmäßiger, ganz blasser, verwaschen aussehender rötlicher Fleck auf der Außenseite der Hose an der linken Hälfte.

Die beiden untersten Hosenknöpfe zeigen auf ihrer schwarzen Unterseite gelbbraun aussehende punktförmige Erhabenheiten, die besonders an dem untersten Hosenknopf recht auffallend sind.

Überzieher: Auf der rechten Seite vorn, zwei Häade breit unter dem untersten Knopf, sieht man auf der Innenseite einen ca. fünfmarkstückgroßen, unregelmäßigen, rötlich gefärbten Fleck mit verwaschenen Rändern.

Zwei Finger breit über dem untersten Knopf findet sich an der Außenseite $1^1/_2$ cm nach außen von der Naht, ein rötlich gefärbter, länglicher, spritzerähnlicher Fleck von 1,0 cm Länge, schräg von oben außen nach unten innen gehend. Zwei Finger breit unter dem untersten Knopf sieht man zwei stecknadelkopfgroße, rundliche rötliche Flecken.

Die Manschetten zeigen hellgelbe und braunrote, längliche streifige Flecken an ihrer Außenseite.

Das Chemisett ließ einzelne unregelmäßige, schmutzig rosafarbene Flecken erkennen.

An den übrigen Sachen des S. waren blutverdächtige Flecken nicht nachweisbar.

Um nun festzustellen, ob die beschriebenen Flecken von Menschenblut herrührten oder nicht, wurde das blutverdächtige Material zunächst einer chemischen Untersuchung auf Blut unterzogen. Die in bekannter Weise angestellte van Deensche und Teichmannsche Probe fielen bei Untersuchung der Flecken am Hosenschlitz und Knopf, sowie am Überzieher positiv aus; ein Beweis, daß sie von Blut herrührten; an den Manschetten und am Chemisett konnte auf diese Weise Blut nicht nachgewiesen werden. Das blutbefleckte Material wurde nunmehr in physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt und filtriert. Sodann wurde zu einem gewissen Quantum (2,0 ccm) einer ca 1:1000 entsprechenden Lösung des blutbefleckten Materials eine kleine Menge (0,1 ccm) von Serum eines mit Menschenblut längerer Zeit vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Fast momentan trat eine starke Trübung in der Flüssigkeit auf, die sich alsbald als flockiger Niederschlag in den Röhren absetzte. Andere zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen bleiben beim Zusatz desselben Serums klar.

Durch diesen positiven Ausfall der spezifischen Reaktion war der Nachweis erbracht, daß es sich hier um Menschenblut handelte. Dasselbe positive Ergebnis wurde erzielt bei Untersuchung des am untersten Hosenknopf, wie in der Umgebung desselben befindlichen Blutes.

In genau derselben Weise und mit demselben Resultat wurden die Blutflecken am Überzieher untersucht.

ad 2. An den Sachen des W. konnten blutverdächtige Stellen nicht nachgewiesen werden.

Auf Grund meiner Untersuchung gebe ich folgendes Gutachten ab:

In den rötlichen, an der Hose des S. am untersten Hosenknopf und seiner Umgebung, sowie am Überzieher in der Genitalgegend befindlichen Flecken ist Menschenblut (wenn Affenblut ausznschließen) nachzuweisen. An den Sachen des W. sind blutverdächtige Stellen nicht aufgefunden. Dr. Uhlenhuth.

Der zuerst Beschuldigte S., der späterhin sein Alibi nachweisen konnte, gab an, die Flecken am Hosenschlitz und Überzieher rührten davon her, daß er die Kohabitation mit einer menstruierenden Person vollzogen habe. Die Richtigkeit dieser Angabe wurde auch durch das betreffende Mädchen bestätigt.

An den Sachen des W., der ebenfalls beschuldigt war, konnte Blut überhaupt nicht gefunden werden, trotzdem er der Tat dringend verdächtig erschien. Das Verfahren wurde mangels weiterer Indizien eingestellt.

In derselben Sache wurde ferner verdächtigt der Maurer Eduard W., dessen Sachen mir ebenfalls zur Untersuchung übergeben wurden.

Gutachten.

Auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Königl. Landgericht, Herrn Landgerichtsrat A., sind mir nachstehend verzeichnete Sachen des Maurers Eduard W. aus R. mit dem Ersuchen übergeben worden, dieselben auf das Vorhandensein von Blutspuren zu prüfen und zu entscheiden, ob die etwa gefundenen Blutflecken von Menschen- oder Tierblut herrühren.

Die untersuchten Sachen sind folgende:

1. eine dunkelblaue Hose, 2. ein dunkelblaues Jackett, 3. eine dunkelblaue Weste, 4. ein dunkelblaues Taschentuch.

ad 1. Am Futter des Hosenschlitzes in der Gegend des unteren Hosenknopfes befinden sich mehrere verwaschene, stecknadelkopf- bis linsengroße, braunrötliche Stellen, bei deren genauer Besichtigung es zweifelhaft erschien, ob diese Flecken von Blut herrührten oder nicht. Es wurde daher zunächst ein kleines Stückchen des blutverdächtigen Materials herausgeschnitten und mit Nadeln fein zerzupft und die Zeugfasern auf einem Objektträger mit einem Körnchen Kochsalz und einem Tropfen Eisessig versetzt und die so entstandene Lösung unter leichtem Erwärmen zum Verdunsten gebracht. Bei Betrachtung unter dem Mikroskop sah man dann deutlich die charakteristischen Teichmannschen Häminkristalle in Form von rhomboiden Stäbchen. Auch die van Deensche Guajakprobe war positiv. Der Beweis, daß es sich um Blut handelte, war hiermit erbracht.

Um nun festzustellen, ob es sich um Menschen- oder Tierblut handelte, wurde ein Stückchen des blutverdächtigen Zeugmateriales längere Zeit mit physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt und in der von mir angegebenen Weise mit einigen Tropfen (0,1 ccm) des Serums eines mit Menschenblut längere Zeit vorbehandelten Kaninchens versetzt. Schon nach etwa 1—2 Minuten trat in der Flüssigkeit eine sehr deutliche, immer stärker werdende Trübung auf, ein Beweis dafür, daß es sich um Menschenblut handelte.

Sonst waren an der Hose blutverdächtige Stellen nicht nachzuweisen.

ad 2. Jackett: An dem schwarzen Futter des Jacketts, der rechten Rocktasche entsprechend, befindet sich ein handtellergroßer, verwaschen aussehender bräunlicher Fleck, der dem Futter an dieser eine derbe Konsistenz verleiht.

Es wird ein Stück herausgeschnitten und die Teichmannsche wie die Ozonprobe damit angestellt. Beide Proben waren völlig negativ. Der Fleck besteht daher nicht aus Blut.

Sonstige blutverdächtige Flecken waren an dem Jackett nicht aufzufinden.

ad 3. Am Westenfutter, der rechten Westentasche entsprechend, sieht man mehrere graubraune bis braunrötliche, zum Teil verwaschene, zum Teil zirkumskripte Flecken. Die genaue Untersuchung mit Hilfe der oben genannten Reaktionen ergab, daß es sich nicht um Blut handelte.

ad 4. Aus dem Taschentuch werden vier etwa stecknadelkopfgroße rötliche Flecken herausgeschnitten und in der eben angegebenen Weise behandelt. Auch hier war das Resultat ein völlig negatives.

Auf Grund meiner Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen:

1. Die Flecken an dem Futter des Hosenschlitzes bestehen aus Menschenblut (da Affenblut auszuschließen).

2. An den übrigen Sachen ist Menschenblut nicht nachweisbar.

Im Laufe der Voruntersuchung wurde nachgewiesen, daß die Blutflecken infolge einer Verletzung durch Sturz vom Fahrrad entstanden waren.

30.

Staatsanwaltschaft bei dem Königlichen Landgericht Gl. 6. J. 1353/02. Nr. 6. Gl., 28. März 1903.

Strafsache gegen W. Mitfolgendem Sack übersende ich mit dem Ersuchen, festzustellen, ob die darauf befindlichen Blutflecke von einem Hunde oder von einem Schweine herrühren.

In der Nacht vom 20./21. Dez. 1902 ist ein Schwein und ein Ziegenbock gestohlen und geschlachtet worden. Das Schwein ist zerteilt und in Stücken fortgebracht worden, während der Ziegenbock liegen blieb. Der Beschuldigte behauptet, das Blut auf dem Sack rühre von seiner Hündin her, die Junge geworfen und auch sonst geblutet habe.

Dr. E.

Gutachten.

Auf Veranlassung der Staatsanwaltschaft bei dem Königlichen Landgericht zu Gl. ist mir unterm 28. März 1903, J.-No. 6, Aktenzeichen G. J. 1353/02. ein Sack mit dem Ersuchen übersandt, festzustellen, ob die darauf befindlichen Blutflecken von einem Hund oder von einem Schwein herrühren.

Die Besichtigung des Sackes ergab folgendes: Der graubraune Sack ist im ganzen stark beschmutzt. Man sieht über denselben zerstreut sehr zahlreiche schwarzbraune, rötliche und gelbbraune Schmutzflecken, die zum Teil diffus ineinander übergehen. Außerdem sieht man zahlreiche rotbraune, blutverdächtige Flecke von verschiedenster Größe und Gestalt, zum Teil sind sie dreimarkstück- bis handtellergroß und haben das Gewebe des Sackes vollkommen durchtränkt, so daß Innen- und Außenseite der betr. Flecken eine gleichmäßig dunkelrote Färbung und derbe Konsistenz aufweist.

Wenn nun auch schon durch bloßen Augenschein mit der großen Wahrscheinlichkeit angenommen werden mußte, daß diese letztgenannten Flecken von Blut herrührten, so konnte doch erst der chemische Nachweis von Blut diese Wahrscheinlichkeit zur Sicherheit machen.

Es wurden zur Ausführung der chemischen Probe von den verschiedensten blutverdächtigen Flecken Stückchen ausgeschnitten, die Fasern zerzupft und auf Filtrierpapier mit Wasser ausgelaugt. Sodann wurde die Guajak- oder Ozonprobe vorgenommen. (Beschreibung wie oben.)

Es wurde ferner die Teichmannsche Häminprobe angestellt. (Beschreibung wie oben.)

Auch diese Reaktion war positiv, d. h. es ließen sich zahlreiche Häminkristalle bei mikroskopischer Betrachtung nachweisen. Nachdem hiermit der Nachweis von Blut mit aller Sicherheit erbracht war, konnte nunmehr zur Untersuchung der Herkunft des Blutes geschritten werden. Die Bestimmung der Herkunft des Blutes erfolgte nach der von mir angegebenen Methode. (Beschreibung wie oben.) Da hier der Verdacht auf Schweineblut vorlag, wurde zu einer aus dem blutbefleckten Zeugstückchen hergestellten sehr dünnen, fast farblosen Lösung ein kleines Quantum eines mit Schweineblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Schon nach wenigen Minuten war in dieser Lösung eine starke Trübung entstanden, die sich bald als flockiger Niederschlag auf den Boden des Reagenzglases absetzte, während die mit demselben Serum versetzten Blutlösungen vom Hunde, Menschen usw. völlig klar blieben.

Zahlreiche von den verschiedensten Stellen des blutbefleckten Sackes hergestellte Blutlösungen ergaben dasselbe unzweifelhafte Resultat.

Damit war mit aller Sicherheit bewiesen, daß die von mir untersuchten Flecken in der Tat von Schweineblut herrühren mußten. Ob sich außerdem noch Hundeblut an dem Sacke befindet, ist möglich; die Untersuchung würde, wenn sie verlangt wird noch einige Zeit in Anspruch nehmen, da augenblicklich Serum zum Nachweis von Hundeblut nicht vorrätig ist und erst vorbereitet werden müßte.

Mein Gutachten lautet also:

An dem mir übersandten Sacke lassen sich zahlreiche Blutflecken nachweisen, die von Schweineblut herrühren.

Prof. Dr. Uhlenhuth.

Die große Bedeutung meines Gutachtens in diesem Falle braucht wohl nicht noch besonders hervorgehoben zu werden.

Die Behauptung des Beschuldigten konnte sofort als falsch zurückgewiesen werden. Und so war durch diese biologische Untersuchung die Wahrheit mit einem Schlage enthüllt.

31.

Königliches Amtsgericht Tr. a. Toll. G. 63/01. 5.

Tr. a. Toll, den 29. Sept. 1904.

In der Anlage übersenden wir Ihnen eine bei dem Arbeiter Z. hier beschlagnahmte Hose. Z. steht im Verdacht, hier einen Hühnerdiebstahl

begangen zu haben, und es wird angenommen, daß die in der Hose befindlichen Blutflecken von dem Blut der geschlachteten Hühner herrühren. Er selbst behauptet, das in der Hose befindliche Blut sei Kaninchenblut.

Wir ersuchen um Untersuchung der Blutflecke und um Übersendung des Gutachtens. N.

Gutachten.

Vom Königlichen Amtsgericht in T. ist mir nebst einem Schreiben vom 29. September 1901, J.-Nr. G. 63/01, die Hose des Arbeiters Z., welcher im Verdacht steht, einen Hühnerdiebstahl begangen zu haben, mit dem Ersuchen übersandt worden, ob die in der Hose befindlichen Blutflecke Hühnerblut oder, wie der Angeklagte behauptet, von Kaninchenblut herrühren.

Die Besichtigung der Hose ergibt, daß dieselbe mit sehr zahlreichen bräunlichgelben Flecken bedeckt ist, die von vornherein nicht den Eindruck erwecken, als ob sie von Blut herrühren. Außer diesen sieht man aber an verschiedenen Stellen mehrere dunkelrote Flecken, welche den Verdacht erwecken, von eingetrocknetem Blut herzurühren. Um sicher darüber ins klare zu kommen, ob die zuerst genannten Flecke von Blut herrühren oder nicht, wurden an verschiedenen Stellen kleine Proben herausgeschnitten und mit denselben die Guajakprobe angestellt. Einige gelbbraune Fäserchen wurden auf einem Stück Filtrierpapier längere Zeit mit physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt, bis das Filtrierpapier durch das an den Fäserchen haftende bräunliche Material sichtbar gefärbt war. Nach dem Übergießen mit alkoholischer Guajakharzlösung und sauerstoffhaltigem Terpentinöl trat keine Blaufärbung auf, wie es der Fall sein müßte, wenn Blutfarbstoff darin enthalten wäre. Die gleichzeitig angestellten Kontrollen mit blutdurchtränkten Zeugfasern ergaben schnell eine intensive Blaufärbung des Filtrierpapiers. Auch die mit Stückchen der Zeugfasern angestellte Teichmannsche Häminprobe fiel negativ aus.

Dieselben Reaktionen wurden nun mit den von vorherein verdächtigen, dunkelrot gefärbten Flecken der Hose angestellt; solche befanden sich an folgenden Stellen:

1. An der linken Kniegegend ein fünfmarkstückgroßer Fleck;
2. handbreit unterhalb dieses sub 1 genannten ein linsengroßer Fleck:
3. etwa zwei Hand breit oberhalb des sub 1 genannten saß an der Hosennaht ein fünfmarkstückgroßer Fleck;
4. ein längsgestellter ganz schmaler, 3 cm langer Fleck drei Finger breit unterhalb des sub 2 bezeichneten.

Die mit diesen Flecken angestellten Guajakproben fielen sämtlich positiv aus, d. h. das mit dem gelbbraunen Material getränkte Filtrierpapier färbte sich nach dem Übergießen mit alkoholischer Guajakharzlösung und Terpentinöl intensiv blau. Ebenso gelang es mir nach Behandlung mit Kochsalz und Eisessig unter langsamem Verdampfen die sog. Teichmannschen Häminkristalle in Form von rhomboiden Stäbchen unter dem Mikroskop zur Darstellung zu bringen. Durch den positiven Ausfall dieser Reaktionen war der Beweis erbracht, daß diese Flecke von Blut herrührten.

Es war nun weiterhin zu entscheiden: Handelt es sich um Vogelblut oder Säugetierblut?

Die Entscheidung dieser Frage gelang auf mikroskopischem Wege. Mit Hilfe von 30 %iger Kalilauge ließ ich mehrere Blutflecken längere Zeit auslaugen. Die mikroskopische Betrachtung dieser ausgelaugten, schwachgelblich gefärbten Flüssigkeit ließ elliptische kernhaltige Blutkörperchen erkennen, wie sie für Vogelblut charakteristisch sind. Es war hierdurch schon entschieden, daß es sich nicht um Kaninchenblut handeln konnte.

Der Entscheidung der Frage, ob es sich um Hühnerblut handelte, konnte nunmehr mit Hilfe der Serumreaktion näher getreten werden. (Beschreibung wie oben.) Setzte ich nun zu der aus den Blutflecken ausgelaugten gelblichen Flüssigkeit 5 Tropfen Serum eines mit Hühnerblut vorbehandelten Kaninchens, so trat fast momentan eine starke Trübung auf, die sich schnell als Niederschlag zu Boden setzte. In der zur Kontrolle herangezogenen Gänseblutlösung und Entenblutlösung trat erst nach längerer Zeit mit diesem Serum nur eine leichte Trübung auf (Verwandtschaftsreaktion); alle übrigen Kontrollblutlösungen blieben völlig klar. Es mußte sich also in vorliegendem Falle, zumal da Gänse- und Entenblut auch sonst ausgeschlossen werden konnte, um Hühnerblut handeln.

Auf Grund dieser Untersuchung gebe ich mein Gutachten dahin ab, daß die an der Hose des p. Z. vorhandenen Blutflecken von Hühnerblut herrühren. Uhlenhuth.

Der Verhandlung wohnte ich als Sachverständiger bei.

Der Mann, welcher diese von mir untersuchte Hose getragen hat, ist nicht zum wenigsten auf Grund meines Gutachtens seiner Tat überführt und verurteilt worden. Der Nachweis von Hühnerblut war begreiflicherweise in diesem Falle forensisch von der allergrößten Bedeutung, denn dieser Befund gab in der Voruntersuchung erst Anlaß, die Sache weiter zu verfolgen.

32.

Der Untersuchungsrichter beim Herzogl. Landgericht Br. Nr. 754. Br., 18. Juni 1904.

Haftsache.

Der Dienstknecht Wilhelm D. in H. ist geständig, am Nachmittag des 3. Juni die 11jährige, auf dem Bett liegende Helene B. mit dem anliegenden Messer erstochen zu haben, indem er derselben in die Halsgegend einen heftigen, ausweislich der Sektion 3 cm tiefen Messerstich beibrachte. Er behauptet, daß bei der Vollführung keinerlei Blutspritzen vorgekommen wären, daß er das Messer in dem Kopfkissen abgewischt und dann in die Hosentasche gesteckt und nur ein paar Stunden später mit demselben ein Strohseil durchschnitten hätte.

Da es für die Untersuchung von Wert ist, ob diese Angaben wahr sind, so liegt mir daran, das anliegende Messer, sowie die ausgeschnittene Hosentasche und ein gleichfalls ausgeschnittenes kleines Stückchen blauen Stoffes darauf untersuchen zu lassen, ob an diesen Sachen Spuren von Menschenblut zu finden sind, wobei ich bemerke, daß das Messer hier zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung bereits auseinander genommen ist und die daran haftenden Partikelchen sich bei dem Messer befinden.

Das Hygienische Institut ersuche ich ergebenst, diese Untersuchung nach der Methode des Prof. Dr. Uhlenhuth ausführen zu wollen. Ich möchte die dringende Bitte um möglichste Beschleunigung anfügen, da die Strafsache noch in der Anfang Juli hier beginnenden Schwurgerichtsperiode zur Aburteilung gelangen soll. gez. H.

Gutachten.

Auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Herzogl. Landgericht Br. in der Haftsache D. sind mir unter dem 18. Juni 1904 S. M. 754 eine ausgeschnittene Hosentasche, ein kleines Stück blauer Stoff, sowie ein auseinandergenommenes Messer mit dem Ersuchen übersandt, festzustellen, ob an diesem Material Spuren von Menschenblut nachzuweisen sind.

ad 1. Hosentasche. Die Innenseite der Hosentasche, die im ganzen mit schmutziggrauen braunen Flecken bedeckt ist, zeigt mehrere, sehr kleine, rötlichgelbe, verwischt aussehende, blutverdächtige Stellen von unregelmäßiger Gestalt.

Um mit Sicherheit zu entscheiden, ob diese Flecken in der Tat von Blut herrührten oder nicht, mußte zunächst eine eingehende chemische Untersuchung vorgenommen werden (Beschreibung wie oben). Guajak- und Teichmannsche Probe positiv.

Dadurch war der Beweis erbracht, daß es sich um Blutflecken handelte.

Es konnte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft dieses Blutes geschritten werden (Beschreibung wie oben.)

Es wurden nun zunächst die kleinen Blutflecken herausgeschnitten und in physiologischer (0,8 %iger) NaCl-Lösung 24 Stunden ausgelaugt. Die so entstandene trübe, beim Schütteln stark schäumende Flüssigkeit wurde filtriert, bis sie vollkommen klar war. Da im vorliegenden Falle der Verdacht auf Menschenblut vorlag, wurde zu ca. 2 ccm dieser Flüssigkeit ein gewisses Quantum Blutserum eines längere Zeit mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens

hinzugefügt. Nach einigen Augenblicken trat in dem die Blutlösung enthaltenden Röhrchen eine deutliche Trübung auf, die sich bald als flockiger Niederschlag zu Boden senkte, während alle zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen anderer Tiere klar blieben. Durch den positiven Ausfall dieser biologischen Reaktion war also bewiesen, daß die Blutflecken von Menschenblut herrührten.

ad 2. Stückchen blaues Zeug. Das kleine Stückchen Zeug von der Größe einer Erbse ließ bei genauer Besichtigung an einer Stelle eine schwach braunrötliche Verfärbung erkennen. Die mit dem blutverdächtigen Material angestellte, oben beschriebene VAN DEENSCHE und TEICHMANNsche Probe fiel positiv aus. Die Verfärbung rührte also von Blut her. Da nun nach Ausführung dieser Reaktionen von dem winzigen blutverdächtigen Material nichts mehr übrig geblieben war, konnte die Frage nach der Herkunft dieses Blutes nicht entschieden werden.

ad 3. Das auseinandergenommene Messer, welches angeblich an einem Kopfkissen abgewischt und dann in die Hosentasche gesteckt war, zeigte an beiden Klingen zahlreiche diffuse braunrote, rostähnliche Flecken. Mit von den verschiedensten Stellen abgekratztem Material wurde die VAN DEENsche Guajakprobe ausgeführt. Sie fiel in allen Fällen negativ aus. Auch von sämtlichen übrigen Teilen des Messers wurden zahlreiche Proben in derselben Weise untersucht — ebenso zahlreiche bei dem Messer liegende braunschwarze Partikelchen, die offenbar an demselben gehaftet hatten — aber auch stets mit negativem Ergebnis.

Mein Gutachten lautet daher folgendermaßen:

1. In der Hosentasche befinden sich mehrere winzige, verwischt aussehende braune Flecken die von Menschenblut (da Affenblut auszuschließen) herrühren.

2. An dem kleinen blauen Zeugstück ist Blut nachweisbar, dessen Herkunft wegen Mangel an Material nicht ermittelt werden konnte.

3. An dem Messer konnte Blut nicht nachgewiesen werden.

Prof. Dr. UHLENHUTH.

33.

Der Untersuchungsrichter am Großherzogl. Badischen Landgericht K. Nr. 2372. K., 8. Nov. 1903.

Herrn Prof. Dr. UHLENHUTH übersende ich im Anschluß an Ihr Schreiben vom 5. ds. Mts. eine Waldaxt, deren Eisen- und Holzteile mit eingekrustetem Blute behaftet sind, mit dem Ersuchen, Sie wollen das Blut gefälligst auf seine Provenienz von Menschen oder Tieren untersuchen und ihr Gutachten unter Rückgabe der betr. Axt an mich gelangen lassen. St.

Gutachten.

In der Strafsache gegen Johann K. von E. wegen Mordes ist mir von dem Untersuchungsrichter des Großherzogl. Badischen Landgerichts zu K. und dem 8. Nov. 1903, J.-Nr. 2372, eine Waldaxt zugeschickt worden, mit dem Ersuchen festzustellen, ob das etwa an ihr vorgefundene Blut vom Menschen oder Tier herrühre.

Die äußere Besichtigung der Waldaxt ergab folgendes: An dem unteren Drittel des Griffes befinden sich, die ganze Oberfläche bedeckend, dunkelrote Flecken, welche ohne deutlich erkennbare Grenze ineinander übergehen. Die der Schneide der Axt zugekehrte Fläche ist in ihrem unteren Drittel zersplittert. Zahlreiche derartige Splitter ragen hervor und sind zum größten Teil vollständig mit solchen roten Flecken überzogen. Diese Flecke sehen so aus, als ob sie von verhältnismäßig noch frischem Blute herrührten. Sämtliche Flächen der eisernen Schneide sind mit braunen, rostartig aussehenden Flecken bedeckt; man bemerkt aber auch zahlreiche, blutähnlich aussehende rote Fleckchen von verschiedenster Größe und Gestalt. Auf einer Fläche der Schneide sieht man in einer Ausdehnung von 12 cm in der Länge und 3 cm in der Breite locker anhaftende lehmartige Erde.

Wenn nun die äußere Besichtigung schon mit großer Wahrscheinlichkeit vermuten ließ, daß diese rotgefärbten Flecke von Blut herrührten, so konnte doch erst die chemisch-mikroskopische Untersuchung darüber völlige Sicherheit verschaffen. Beschreibung wie oben: Guajak- und TEICHMANNsche Probe positiv.

Durch den Nachweis der Teichmannschen Kristalle war mit absoluter Sicherheit dargetan, daß die untersuchten, blutverdächtigen Stellen in der Tat von Blut herrührten.

Nachdem dieser Beweis erbracht war, konnte zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden. (Beschreibung der Methode wie oben.)

Da es sich hier um einen Mord handelte, kam in erster Linie der Nachweis von Menschenblut in Frage. Es wurden von den verschiedensten Stellen des Griffes und der Schneide blutige Stellen abgekratzt und das gewonnene Material in physiologischer NaCl-Lösung (0,8proz.) ausgelaugt. Man erhielt dann eine schwachgelblich gefärbte, beim Schütteln deutlich schäumende Flüssigkeit, deren Konzentration — wie die Kochprobe und der Zusatz einiger Tropfen HNo_3 anzeigte — etwa 1 : 1000 entsprach. Zu 2,0 ccm solcher Flüssigkeit, wurde nun ein gewisses Quantum von spezifischem Blutserum, d. h. von Blutserum eines längere Zeit mit Menschenblut eingespritzten Kaninchens, zugesetzt. Es trat sofort eine Trübung auf, welche sich bald als flockiger Niederschlag zu Boden senkte, während sämtliche zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen der verschiedensten Tiere beim Zusatz des spezifischen Serums vollkommen klar blieben. Auch das normale Blutserum von Kaninchen rief eine Trübung in diesen Lösungen nicht hervor.

Die Untersuchung sehr zahlreicher Blutflecken am Griff und an der Schneide führte nur zu demselben unzweideutigen Ergebnis.

Es war also durch diese spezifische Reaktion mit Sicherheit erwiesen, daß die von mir untersuchten Blutflecken von Menschenblut herrührten.

Auf Grund dieses Befundes lautet mein Gutachten folgendermaßen:

Die von mir untersuchten roten Flecken an der Waldaxt rühren von Blut, und zwar von Menschenblut (da Affenblut auszuschließen) her.

Prof. Dr. Uhlenhuth.

Die Axt, mit der ein Mann erschlagen sein soll, wurde in der Nähe der Mordstelle aufgefunden. Eine weitere Aufklärung hat der Fall bisher nicht gefunden.

34.

Tr., den 5. November 1904.

In der Untersuchungssache gegen K. in Studernheim und einen Genossen wegen Mordes, Aktenzeichen J.-No. 4 U. R. 169/04, erlaube ich mir, in den Anlagen zu übersenden:

1. ein Stück Rasen (in einer Schachtel),
2. ein Messer (in Kuvert),
3. Seidenpapier (in Kuvert),
4. eine Flasche (Blut angeblich am Pfropfen).

mit der ergebensten Bitte, ein Gutachten darüber gütigst abgeben zu wollen, ob nach dem Ergebnis der biologischen Untersuchung die an dem Gegenstande befindlichen Blutflecken von Menschenblut herrühren.

Nach dem Resultat der bisherigen Ermittelungen ist anzunehmen, daß an der Stelle, wo die übersandten Gegenstände gefunden wurden, ein bis jetzt vermißter Mann ermordet worden ist. Die Leiche, die höchstwahrscheinlich in die Mosel geworfen wurde, ist noch nicht gefunden. gez. W.

Gutachten.

In der Untersuchungssache gegen K. und einen Genossen wegen Mordes sind mir auf Veranlassung des Untersuchungsrichters beim Königl. Landgericht Tr. folgende Gegenstände:

1. Rasen, 2. Messer, 3. Seidenpapier, 4. Flasche übersandt, mit dem Ersuchen, festzustellen, ob die an diesen Gegenständen event. befindlichen Blutflecken von Menschenblut herrühren.

ad 1. Rasen. Zwei quadratische, ausgestochene Rasenstücke liegen in einer Pappenschachtel. Der Rasen ist frischgrün und mit tauartiger Feuchtigkeit bedeckt. Bei beiden Rasenstücken sieht man an einer Stelle eine Vertiefung, an welcher das Gras fehlt und wo die Erdschicht frei zutage liegt. In der Umgebung dieser vertieften Stellen sieht man zahlreiche Grashalme mit frischen blutroten Flecken, die an einzelnen Stellen angetrocknet erscheinen, bedeckt.

Die darunter liegende Erdschicht läßt solche blutverdächtige Flecken nicht erkennen. Schon nach der äußeren Besichtigung mußte man annehmen, daß diese roten Flecken an dem Grashalmen von Blut herrührten. Um das mit Sicherheit festzustellen, mußte die chemische Untersuchung dieser Flecken vorgenommen werden. (Beschreibung wie oben.) Guajak- und Teichmannsche Probe positiv.

Nachdem also festgestellt war, daß die roten Flecken von Blut herrührten, konnte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft desselben geschritten werden.

Es wurden zahlreiche blutbefleckte Grashalme in physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt. Schon nach wenigen Minuten war eine rötliche, beim Schütteln stark schäumende Flüssigkeit entstanden, die weiterhin noch verdünnt wurde, bis sie einer Verdünnung von etwa 1 : 1000 entsprach. Da nun in diesem Falle der Verdacht auf Menschenblut in erster Linie in Frage kam, wurden je 2,0 dieser Blutlösung 0,1 ccm Serum eines mit Menschenblut längere Zeit vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Nach wenigen Augenblicken sah man dann eine starke Trübung in der betr. Blutlösung auftreten, die sich nach einiger Zeit als flockiger Niederschlag zu Boden senkte. Sämtliche zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen anderer Tiere zeigten bei Zusatz desselben Serums keine sichtbaren Veränderungen, auch bei Zusatz von Serum normaler, nicht vorbehandelter Kaninchen blieben sämtliche Blutlösungen klar. Zahlreiche in der beschriebenen Weise ausgeführte Proben führten zu demselben Ergebnis, so daß es keinem Zweifel unterliegen kann, daß die betr. von mir untersuchten Blutflecken von Menschenblut herrührten.

ad 2. Messer. Das Taschenmesser, dessen größere Klinge den Namen „J. G. Schmelzer“ trägt, zeigt auf beiden Seiten dieser Klinge unregelmäßig gestaltete, wie abgewischt aussehende, rotbraune blutverdächtige Flecken, die sich leicht abkratzen lassen. Das so gewonnene rotbraune, pulverförmige Material wurde in derselben Weise, wie oben angegeben, zunächst einer chemischen Untersuchung unterzogen. Sowohl die van Deensche Guajakprobe wie auch die Teichmannsche Reaktion fiel positiv aus. Die biologische Reaktion führte zu dem Resultat, daß es sich hier ebenfalls um Menschenblut handelte. Auch an der kleinen Klinge sah man zahlreiche brauurötliche, unregelmäßig gestaltete Flecken. Die van Deensche Probe fiel jedoch hier negativ aus, so daß man berechtigt war, anzunehmen, daß diese Flecken nicht von Blut herrührten. Es sind höchstwahrscheinlich Rostflecken.

ad 3. Seidenpapier. Das zu Reklamezwecken vielfach mit „Apenta“ bezeichnet ist, zeigt zahlreiche unregelmäßig erbsen- bis bohnengroße, mit rotbraunen Krusten bedeckte Flecken, welche genau in derselben Weise, wie oben beschrieben, untersucht wurden.

Die Untersuchung ergab, daß diese Flecken auch von Blut, und zwar von Menschenblut herrührten.

ad 4. Flasche. Zeigt an dem Kork eine winzige, makroskopisch sichtbare, verwischt aussehende graurötliche Flecken. Die Guajakprobe fiel positiv aus. Für weitere Untersuchungen — Teichmannsche und biologische Reaktion — war kein Material mehr zu gewinnen, so daß nicht mit absoluter Sicherheit entschieden werden konnte, ob diese Flecken von Blut herrührten, wenn es auch nach dem prompten Ausfall der van Deenschen Probe sehr wahrscheinlich ist.

Mein Gutachten lautet:

An den Rasenstücken, am Messer und dem Seidenpapier befinden sich Blutflecken, welche von Menschenblut herrühren (wenn Affenblut auszuschließen). Prof. Dr. Uhlenhuth.

Nach Abgabe meines Gutachtens haben die Angeklagten im Laufe der Voruntersuchung ein Geständnis abgelegt, in dem sie zugaben, an der Stelle, wo das Menschenblut auf dem Rasen nachgewiesen wurde, einen später als Leiche in der Mosel gefundenen Mann erstochen zu haben.

35.

Königliches Amtsgericht. Gr., den 15. September 1903.
2. R. H. 172/03.

In der Strafsache gegen B. soll von Ihnen ein Gutachten abgegeben werden, ob auf einer Schere Blutflecken vorhanden sind und bejahendenfalls, ob die

Flecke von Menschen- oder Tierblut herrühren. Wir ersuchen das zu begutachtende Objekt bald gefälligst auf der Gerichtsschreiberei Zimmer 6 des Königl. Amtsgerichts in Empfang zu nehmen.

Die Beschuldigte ist in Haft. Es wird deshalb um Beschleunigung gebeten.

L.

Gutachten.

Auf Veranlassung des Königl. Amtsgerichts zu Gr. ist mir in der Strafsache gegen B. am 15. September 1903 J.-Nr. 2 R. II. 172/03 eine Schere übersandt mit dem Ersuchen, festzustellen, ob an derselben Blutflecken vorhanden sind und bejahendenfalls, ob die Flecken von Menschen- oder Tierblut herrühren.

Bei der äußeren Besichtigung ergibt sich folgendes:

Die Schere ist an ihrem Griff mit Rost völlig bedeckt. An der Schneide sieht man ebenfalls sehr zahlreiche rostbraune Flecken, außerdem mehrere rötliche Stellen, welche wie Blutflecke aussehen. Die Flecken sind sehr klein und gehen zum Teil diffus ineinander über.

Um nun festzustellen, ob diese Flecke in der Tat von Blut herrührten, war es notwendig, zunächst die üblichen chemischen Reaktionen vorzunehmen. (Beschreibung wie oben.) Guajak- und Teichmannsche Probe positiv.

Nachdem so der Nachweis von Blut erbracht war, konnte zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden.

Es wurde von dem blutverdächtigen Material möglichst viel abgekratzt und in einer physiologischen NaCl-Lösung 24 Stunden lang ausgelaugt. Zu 2,02 ccm der so erhaltenen stark schäumenden Lösung wurde nun ein gewisses Quantum eines hochwertigen, auf Menschenblut eingestellten Kaninchenserums hinzugefügt.

Nach wenigen Augenblicken trat eine deutliche Trübung der anfangs völlig klaren Blutlösung auf, welche sich bald als Niederschlag am Boden des Reagenzglases absetzte. Sämtliche Kontrollblutlösungen, von den verschiedensten Tieren stammend, blieben bei Zusatz des Serums völlig klar.

Es war somit bewiesen, daß die von mir untersuchten Blutflecke an der Schere von Menschenblut herrührten.

Auf Grund der Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab:

1. An der Schere sind Blutflecken nachweisbar.
2. Die von mir untersuchten Blutflecken rühren von Menschenblut her (da Affenblut auszuschließen).

Die später erfolgte Einsicht in die Akten ergibt folgendes:

Es handelt sich um einen Kindesmord. Die 11mal vorbestrafte Angeklagte wird beschuldigt, das Kind unmittelbar nach der Geburt mit der Schere abgenabelt und ertränkt zu haben, während sie behauptet, das Kind habe sie auf dem Nachtstuhl sitzend geboren, wobei die Nabelschnur abgerissen sei.

Die Schere ist von einem Gendarmen in einem Wandschrank bei der Angeklagten gefunden, und zwar unmittelbar nach der Tat, mit frischem Blut, befleckt.

Sie behauptete daraufhin zunächst, die Flecken könnten keine Blutflecken sein; sie habe damit pflaumenmußähnliche Eßwaren geschnitten, dann meinte sie, es sei Rost, dann schließlich habe sie damit einer Taube den Kopf abgeschnitten.

Der weitere Gang der Verhandlung, der Sektionsbefund bei dem Kinde ließen mit Sicherheit den Schluß zu, daß die Nabelschnur mit einem schneidenden Instrument abgeschnitten war und die Annahme, daß dies die Schere war, wurde durch den Befund von Menschenblut an dieser Schere in eklatanter Weise bestätigt.

36.

Untersuchung eines Stückchens Bettzeug.

Ein Stück Bettzeug wurde mir zugeschickt mit folgender Angabe:

Ein Mann, der eine Rente beansprucht, wurde eines Morgens mit Blut befleckt in seinem Bett vorgefunden. Er behauptete, einen Blutsturz gehabt zu haben. Die

ärztliche Untersuchung habe nichts ergeben, was dafür sprechen könne; es sei daher wichtig, die Provienenz des Blutes festzustellen.

Die Untersuchung wurde in oben beschriebener Weise vorgenommen.

Guajak- und TEICHMANNsche Proben waren positiv.

Die biologische Reaktion auf Menschenblut war negativ.

Es wurden nunmehr die verschiedensten zur Verfügung stehenden Antisera der Blutlösung zugesetzt, bei Schweine- und Pferdeantiserumzusatz war die Reaktion ebenfalls negativ. Ein Rinderantiserum gab eine momentan starke Reaktion.

Ich gab mein Gutachten dahin ab, daß ich sagte, es handele sich hier um Rinderblut.

Als dies dem Betreffenden direkt auf den Kopf zugesagt wurde, gab er zu, zum Zwecke der Täuschung eine Flasche mit Rinderblut in seinem Bett ausgegossen zu haben.

37.

Gr., 15. März 1905.

Gutachten.

Auf Ersuchen der Königl. Staatsanwaltschaft zu E. sind mir folgende Gegenstände zur Untersuchung übergeben, um festzustellen, ob an ihnen Spuren von Menschenblut nachweisbar sind. Die Gegenstände sind folgende:

1. Ein Schlagring aus Eisen, gefunden vor der Tür B. 3; 2. ein Beil; 3. ein Brotmesser, Fundort: Abort des Pl.; 4. zwei Hackbeile, I und II; 5. drei Schlachtmesser, I, II, III; 6. eine Weste des Angeschuldigten B. (Nr. XI); 7. grüne Joppe des Johann B. (Nr. I); 8. an derselben angenäht: Stück aus dem Hemde des Joseph Pl.; 9. Rockkragen des Johann B. (Nr. V); 10. eine Hose mit Hosenträger, Fundort: Schlafzimmer des W. und B. (Nr. XII); 11 Hut des Joseph W. (Nr. II); 12. ein zerrissenes Flanellhemd des Pl. (Nr. X); 13. ein Paar zerrissene Hosenträger (Nr. VI); 14. Vorhemd des Getöteten (Nr. VIII). Ein Briefkuvert, enthaltend: 15. zwei Krawatten; 16. einen blutigen Stehkragen; 17. eine Manschette; 18. ein Stück zerrissene Uhrkordel; 19. einen Manschettenknopf; 20. einen Kragenknopf; 21. zwei Teile eines Vorhemdknopfes; 22. ein Stück einer Glasflasche; 23. ein Stück Holz, zugespitzt. Fundort von Nr. 15—23: vor und im Hause Pl.

ad 1. Schlagring. Der Schlagring zeigt außen in der Umgebung der zackigen Spitzen und auch an den für die Finger bestimmten Löchern zahlreiche braunrote Flecken von unregelmäßiger Gestalt und verschiedener Größe. Die Flecken sehen so aus, als ob sie von Blut herrühren. Sie lassen sich mit dem Messer leicht abkratzen. Im übrigen zeigt der Schlagring zahlreiche rostähnliche Stellen.

Um festzustellen, ob diese Flecken von Blut herrühren oder nicht, mußte nächst die chemische Untersuchung vorgenommen werden. (Beschreibung wie oben.) Guajak- und TEICHMANNsche Probe positiv. Um nun die Herkunft des Blutes zu bestimmen, wurde zu 2,0 ccm einer von dem Schlagring hergestellten dünnen (1 :1000) Blutlösung 0,1 ccm Blutserum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Schon nach wenigen Augenblicken war in dem diese Blutlösung enthaltenden Röhrchen eine starke Trübung entstanden, die sich nach einiger Zeit als flockiger Niederschlag am Boden des Röhrchens niedersetzte.

Sämtliche zur Kontrolle herangezogene Blutlösungen anderer Tiere blieben bei Zusatz desselben Serums vollkommen klar, auch gab normales, von nicht vorbehandelten Kaninchen stammendes Serum in dieser Blutlösung keine Trübung. Durch diesen positiven Ausfall der biologischen Reaktion war zur Evidenz erwiesen, daß es sich hier um Menschenblut handelt.

ad 2. Beil (Fundort: unter dem Schrank des Joseph Pl.).

Der Eisenteil zeigt zahlreiche gelbbraune, zum Teil diffus ineinanden übergehende, rostähnliche Flecken. Am Holzteil sind auch mehrere zahlreiche, schwarzbraun aussehende Flecken sichtbar.

Die Untersuchung dieser Flecken mit Hilfe der oben genau beschriebenen VAN DEENschen Guajakprobe, sowie der von RICHTER angegebene Wasserstoffsuperoxydprobe ergibt ein negatives Resultat. Der negative Ausfall dieser Reaktionen läßt den Schluß zu, daß diese Flecken nicht von Blut herrühren.

ad 3. Brotmesser (Fundort: Abort des Pl.). Das Brotmesser weist zahlreiche braunrote bis bohnengroße Flecken auf, die offenbar von Rost herrühren.

Außer diesen sieht man zahlreiche braunschwarze und graubraune Flecken mit fest anhaftenden bröckeligen Massen, die sich leicht entfernen lassen. Die Untersuchung dieser Flecken mit der Guajak- und Wasserstoffsuperoxydprobe führte zu negativem Ergebnis. Die untersuchten Flecken rühren also nicht von Blut her. Auch nach Abnahme der angebrannten Hornschalen läßt sich an keiner Stelle Blut nachweisen. Es ist möglich, daß der Verbrennungsprozeß eventuell die Bluteiweißkörper zerstört hat.

ad 4. Drei Schlachtmesser.

Schlachtmesser I zeigt zahlreiche rostbraune Flecken an der Schneide, die bei chemischer Untersuchung sich nicht als Blut erwiesen. An dem hölzernen Teile, am Übergang zum eisernen Teile, ebenso in der Rille zwischen den Holzschalen sieht man mehrere graubraune, fettig aussehende Partikelchen, die den Eindruck erwecken, als ob sie von Fleischteilen herrührten.

Die mikroskopische Untersuchung dieser mit Kochsalzlösung aufgeweichten Partikelchen läßt deutliche quergestreifte Muskelfasern erkennen. Diese Messer werden behufs Ausführung der biologischen Reaktion auf Menschen- resp. Tierfleisch ausgelaugt. Diese ausgelaugte Flüssigkeit wird sodann mit Menscheneiweißantiserum versetzt. Eine Trübung trat nicht auf. Das Fleisch rührt also nicht von Menschen her. Auch Menschenblutflecken sind nicht nachweisbar. Da diesseits angenommen wird, daß es im vorliegenden Falle nicht von Wichtigkeit ist, die Art des Fleisches zu ermitteln, wurde die Untersuchung hiermit abgeschlossen. Sollte es dennoch von Bedeutung sein, so würde die diesbezügliche Untersuchung noch einige Zeit in Anspruch nehmen.

Schlachtmesser II zeigt ebenfalls zahlreiche rotbraune, rostähnliche Flecken, die, wie wie die chemische Untersuchung erweist, nicht von Blut herrühren. An dem hölzernen Teile sieht man in dem Spalt, in welchem der eiserne Teil eingelassen ist, graubraune Partikelchen, die, wie die mikroskopische Untersuchung ergibt, von Fleischteilchen herrühren. Auch sieht man dort anhaftend einige Schweineborsten.

Schlachtmesser III zeigt dasselbe Bild wie Schlachtmesser II. Auch hier ergibt die biologische Untersuchung, daß Menschenblut resp. -fleisch an dem Messer nicht nachweisbar ist. Es handelt sich um Reste von Tierfleisch.

Die Schlachtmesser sind in graubraunem Papier eingewickelt, welches, wie die chemische und biologische Untersuchung ergibt, zahlreiche Menschenblutflecken erkennen läßt.

ad 5. Zwei Hackbeile I und II.

Hackbeil I ist mit zahlreichen rostbraunen Flecken von verschiedenster Größe und Gestalt bedeckt. Die Untersuchung dieser Flecken mit den angegebenen Methoden läßt den Nachweis von Blut nicht erbringen.

Hackbeil II zeigt an der eisernen Schneide zahlreiche rostbraune Flecken, die nicht von Blut herrühren. Ferner sieht man an beiden Seiten der eisernen Schneide graubraune, leicht anhaftende Partikelchen, die so aussehen, als ob sie von Fleischresten herrührten. Dieses Material wird abgekratzt. Die Blutreaktionen fielen negativ aus. Die mikroskopische Untersuchung läßt einzelne quergestreifte Muskeln erkennen.

Die biologische Reaktion ergibt, daß diese nicht vom Menschen stammen. Es handels sich um Tierfleisch.

ad 6. Weste des Angeschuldigten B. (Nr. XI). Die Weste zeigt vorn am Westenkragen graubraune Flecken. Ebensolche unregelmäßig gestaltete Flecken sieht man auf beiden Brustseiten. Die Wasserstoffsuperoxydprobe ist negativ, ebenso die VAN DEENsche Probe. Das Futter der Weste zeigt zahlreiche graubraune Schmutzflecke, die, wie die chemische Untersuchung ergibt, nicht von Blut herrühren.

ad 7. Grüne Joppe des B., an welcher der Kragen fehlt, zeigt am unteren Drittel beider Ärmel unregelmäßig gestaltete schwarzgraue Flecken. Die Wasserstoffsuperoxydreaktion ist negativ, ebenso die VAN DEENsche Probe. Ähnliche Flecke befinden sich an beiden Ärmeln mehr nach oben zu, hinten und vorn. Auch auch dem Rückenstück sieht man einzelne derartige schwarzbraune Flecke, die ebenfalls bei Ausführung der VAN DEENschen und Wasserstoffoxydprobe ein negatives Resultat ergeben. Die Taschen zeigen keine blutverdächtigen Stellen, auch das in der Rocktasche steckende Taschentuch nicht. Es ist also am Rock kein Blut nachzuweisen.

ad 8. Auf dem Rücken angenäht findet sich ein Stück des Hemdes des Josef Pl., auf dem zahlreiche blutverdächtige Stellen vorhanden sind. Guajak-, Wassersoffsuperoxyd-, TEICHMANNsche Probe positiv. Biologische Reaktion auf Menschenblut positiv.

Es handelt sich also um Menschenblut.

ad 9. Der abgerissene Rockkragen des Johann B. läßt blutverdächtige Flecke nicht erkennen.

ad 10. Die schwarze Hose zeigt an den Hosenbeinen verschiedene graue Flecke, die offenbar von Schmutz herrühren. Blutverdächtige Flecken sind nirgendwo, auch in den Taschen nicht nachzuweisen. Auch die Hosenträger lassen blutverdächtige Flecken nicht erkennen.

ad 11. Hut des Joseph W. Der grüne Hut weist an dem Einkniff auf der Scheitelgegend einen wie verwischt aussehenden braunroten Flecken auf. Zwei ebenso beschaffene Flecken finden sich mehr nach vorn zu an der eingekniffen Stelle. Wasserstoffsuperoxyd-, VAN DEENsche Probe positiv, TEICHMANNsche Reaktion positiv. Auch an der Hutkrempe unten findet sich an der Umschlagstelle nach dem Kopfe zu ein brauner, wie verwischt aussehender, blutverdächtiger Fleck. Die biologische Reaktion auf Menschenblut ist positiv. Auch die übrigen Flecken bestehen nach der chemischen und biologischen Untersuchungsmethode aus Menschenblut.

ad 12. Das rotweiß gestreifte Hemd des Pl. zeigt am unteren Drittel des rechten Ärmels eine längsgestellte, aus zahlreichen kleinen punktförmigen Flecken zusammengesetzte, blutverdächtige Stelle. Wasserstoffsuperoxydprobe positiv, ebenso VAN DEENsche und TEICHMANNsche Reaktion. Biologische Reaktion auf Menschenblut positiv. Es handelt sich also um Menschenblut.

ad 13. Ein Paar zerrissene Hosenträger, an der Schnalle an der Hinterseite mehrere rostbraune Flecken; VAN DEENsche-, Wasserstoffsuperoxydprobe negativ. Blut ist also nicht nachweisbar.

ad 14. Das Vorhemd des Getöteten erscheint durch und durch wie von Blut durchtränkt. VAN DEENsche-, TEICHMANNsche, biologische Reaktion positiv. Es handelt sich um Menschenblut.

ad 15. Die bordeauxrote Krawatte (längliche) zeigt keine blutverdächtigen Stellen.

Die schwarzweißrote (kleine) Schleife zeigt vorn an dem einen Ende einen bohnengroßen, braunroten blutverdächtigen Fleck. Ebenso sieht man zahlreiche verdächtige Flecke am Futter des Halsteiles der Krawatte, braunrote Stellen.

Wasserstoffsuperoxydprobe: positiv, ebenso die VAN DEENsche und TEICHMANNsche Probe. Die biologische Prüfung auf Menschenblut ist positiv. Es handelt sich also um Menschenblut.

ad 16. Ein blutiger Stehkragen. Der Kragen ist auf beiden Seiten sehr stark mit Schmutzflecken bedeckt, an der linken Seite zeigt er an der Außenfläche einen fünfmarkstückgroßen, unregelmäßig gestalteten braunroten Fleck, der aussieht, als ob er ausgewaschen wäre. Vereinzelte ganz kleine Flecke finden sich auch zerstreut auf der Außen- und Innenseite des Kragens, hier in der Nähe des hinteren Kragenknopfloches. Die Wasserstoffsuperoxyd- und VAN DEENsche Guajakprobe und TEICHMANNsche Reaktion sind positiv. Ebenso ist die biologische Reaktion auf Menschenblut positiv. Es handelt sich also um Menschenblut.

ad 17. Die Manschette läßt an keiner Stelle blutverdächtige Stellen erkennen, dasselbe gilt für die Uhrkordel und den Manschettenknopf, ebenso Kragenknopf und die beiden Teile des Vorhemdknopfes.

ad. 22. Glasscherbe. Auf der Papierseite der Glasscherbe findet sich ein handtellergroßer, blutverdächtiger Fleck, auf der anderen Seite der Glasscherbe finden sich zahlreiche braunrote, mit trockenen Krusten bedeckte blutverdächtige Stellen.

Ozonprobe positiv, Wasserstoffsuperoxydprobe positiv, TEICHMANNsche Probe positiv, Reaktion auf Menschenblut positiv.

ad 23. An dem Holzstück sieht man an der Bohrspitze mehrere kleine blutverdächtige Flecken, ebenso an dem Handgriff ganz schwach gelblich gefärbte, blutverdächtige Stellen. Reaktion mit Wasserstoffsuperoxyd positiv.

Auf Grund dieser Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab:

An dem Schlagring, an dem Hemd des Pl., an dem Hut des W., an dem Vorhemd des Getöteten, an der schwarzweißroten Krawatte, an dem Stehkragen, an der Glasscherbe, an dem Holzbohrer, an dem Papier lassen sich Flecken von Menschenblut nachweisen (wenn Affenfleisch auszuschließen).

Am Hackbeil II und den drei Schlachtmessern sind Fleischreste nachgewiesen, die nicht von Menschen, sondern von Tieren stammen.

Nachtrag.

An dem Schlachtmesser II ließen sich auf der Schaftrille noch genügende Mengen von Muskelfleisch abkratzen, um die biologische Reaktion anzustellen. Das Serum eines mit Schweineeiweiß (Blut) vorbehandelten Kaninchens ergab in der aus dem Fleisch ausgelaugten Flüssigkeit eine unzweideutige positive Reaktion.

Es handelt sich hier also um Reste von Schweinefleisch.

Die von den übrigen Schlachtmessern und dem Hackbeil II abgekratzten Massen, die hauptsächlich aus Fett bestanden, reichten nicht mehr aus, um mit Hilfe der biologischen Reaktion festzustellen, von welcher Tierart sie herrührten, zumal da eine hinreichende Lösung derselben wegen des Fettgehaltes nicht zu erzielen war.

Es wurde festgestellt, daß die Personen, an deren Sachen Menschenblut nachgewiesen wurde, in eine Schlägerei verwickelt waren, bei der ein Mann erstochen wurde. Die Schlachtmesser und Hackbeile, an denen Tierfleischreste (Schwein) nachgewiesen wurden, waren in der Tat zum Schlachten von Schweinen benutzt. Die übrigen mit Menschenblut befleckten Gegenstände wurden in einer Blutlache, in der Nähe des Getöteten gefunden.

38.

Strafsache wegen Wilddieberei. Gr., 1. April 1905.

Auf Veranlassung des Königl. Landgerichts zu M. sind mir (durch das Amtsgericht Gr.) in der Strafsache K. und Genossen wegen Wilddieberei 1. ein Rucksack, 2. darin drei Fetzen Papier, 3. darin ein Stück Sackleinewand, 4. ein Brett, 5. ein Jagdgewehr, 6. 3 Patronen übersandt, mit dem Ersuchen diese Gegenstände auf das Vorhandensein von Reh- resp. Entenblut zu untersuchen.

ad 1. Der Rucksack zeigt zahlreiche blutverdächtige Flecken. Ganz besonders zahlreich finden sie sich an der Außenseite, dem unteren Drittel entsprechend, sowohl an den nach hinten gerichteten wie auch den dem Rücken des event. Trägers aufliegenden Partien. Die Flecken sehen zum Teil schwarzbraun aus, zum Teil haben sie eine braunrötliche Farbe, wie sie für frische Blutflecken charakteristisch ist. Das Zeuggewebe des Rucksackes fühlt sich an den Stellen der Flecken steif und hart an, und es macht den Eindruck als ob das Blut die ganze Zeugmasse durchtränkt hätte. Dieser Eindruck wird noch dadurch bestärkt, daß auch die Innenseite des Zeuges, sowie die derselben unmittelbar anliegende Fläche des wasserdichten Innenfutters — nach Herausschneiden einiger blutverdächtiger Zeugstückchen — sich als mit blutroten krustenartigen Flecken bedeckt erweist.

An einzelnen Stellen hat durch diese roten blutverdächtigen Massen eine direkte Verklebung des Rucksackstoffes mit dem wasserdichten Innenfutter stattgefunden. Diese blutroten Massen am Innenfutter können also nur von außen dahingelangt sein, da wegen der Wasserdichtigkeit des Futters eine Befleckung von dem Innern des Rucksackes her ausgeschlossen erscheint.

Auch an den oberen Partien des Rucksackes sieht man besonders in der Gegend des oberen Randes, wo die Schnürlöcher sich befinden, zahlreiche frischrote blutverdächtige Flecken von unregelmäßiger Gestalt und verschiedenster Größe. Ebensolche Flecken befinden sich auch an den oberen Partien der Innenseite des Rucksackes, während der wasserdichte Stoff auf der Innenseite anscheinend frei ist von blutverdächtigen Stellen.

Um nun den sicheren Beweis zu erbringen, daß diese Flecken von Blut herrühren, wurden die chemischen Reaktionen ausgeführt. Beschreibung wie oben: Guajak- und Teichmannsche Reaktion positiv.

Eine Spur des blutverdächtigen Materials wurde mit einem Körnchen Kochsalz und einigen Tropfen Eisessig versetzt und das Ganze dann über der Flamme erhitzt. Man sah dann bei mikroskopischer Beobachtung zahlreiche rhomboide Stäbchen, die Teichmannschen Häminkristalle, wie sie für Blut absolut beweisend sind.

Um nun die Herkunft dieses Blutes zu ermitteln, wurde die biologische Methode angewandt. Zahlreiche Flecken wurden mit physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt, bis eine rötlichgelbe Flüssigkeit entstanden war. Da hier

der Verdacht auf Rehblut vorlag, wurde zu einem gewissen Quantum — 2,0 ccm — dieser Flüssigkeit eine geringe Menge — 0,1 ccm — Blutserum eines mit Rehblut längere Zeit vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Schon nach wenigen Augenblicken entstand in diesen Röhrchen eine starke intensive Trübung, die sich bald als Niederschlag absetzte, während alle zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen anderer Tiere bei Zusatz desselben Serums klar blieben. Nach etwa einer halben Stunde war auch in einer Hirschblutlösung eine ganz leichte Trübung entstanden, die aber mit der momentanen intensiv auftretenden spezifischen Trübung nicht zu verwechseln war. Es entsprach diese der Verwandtschaft zwischen Hirsch und Reh. Nach dem Ausfall dieser biologischen Reaktion kann es keinem Zweifel unterliegen, daß es sich hier um Rehblut handelt (da Hammel- und Ziegenblut nicht in Betracht kamen).

An dem Rucksack fanden sich zum Teil, den Blutflecken aufsitzend, dünne graue Haare, die schon makroskopisch wie Rehhaare aussahen. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß dieselben eine sehr breite, mit großmaschigen, lufthaltigen Zellen durchsetzte Markhöhle aufwiesen, wie sie für Rehhaare charakteristisch ist. Das mikroskopische Bild entsprach genau der in dem Atlas von WALDEYER abgebildeten Tafel der Rehhaare. Ich bin auf Grund der mikroskopischen Untersuchung der Ansicht, daß hier Rehhaare vorliegen.

ad 2. Drei Fetzen Papier. Die aus Zeitungs- und Packpapier bestehenden Papierfetzen sind mit zahlreichen blutroten Flecken bedeckt.

Die Untersuchung zahlreicher derartiger Flecken mit Hilfe der Guajak-, Wasserstoffsuperoxyd- und TEICHMANNschen Probe ergibt das Vorhandensein von Blut; durch die biologische Reaktion konnte sodann der Nachweis von Rehblut mit Sicherheit erbracht werden.

ad 3. Die angeblich gewaschene Sackleinwand zeigt an den verschiedensten Stellen grauschwarzbraune Flecken von verschiedenster Größe und Gestalt. Durch diese Flecken erhält das Gewebe eine derbe Konsistenz.

Die Untersuchung auf Blut, die in der oben beschriebenen Weise vorgenommen wird, führt zu negativem Resultat. Es ließ sich also an der Sackleinwand Blut nicht nachweisen.

ad 4. Brett. Das Brett weist an den verschiedensten Stellen blutverdächtige Flecken auf, die zum Teil mit rötlichen Krusten bedeckt sind. Zunächst wird ein ganz frisch aussehender mit 1 bezeichneter Fleck an der Bruchfläche des Brettes untersucht, genau in der oben beschriebenen Weise. VAN DEENsche und TEICHMANNsche Probe positiv. Mit der ausgelaugten Flüssigkeit wurde sodann die Reaktion auf Rehblut angestellt. Sofort nach Zusatz des Rehblutantiserums trat eine starke Trübung auf; die Kontrollen blieben klar. Es handelt sich also um Rehblut (s. oben).

Dasselbe Resultat ergaben die von mir mit „Reh“ bezeichneten, auf der einen Fläche des Brettes befindlichen Flecken; besonders in der Umgebung zahlreicher, offenbar beim Zerhacken des Rehfleisches entstandenen, in die Tiefe des Holzes gehenden Rillen. Rehhaare waren am Brett nicht aufzufinden.

Man sieht ferner an einer Stelle auf der anderen Flachseite des Brettes eine handtellergroße Fläche, auf der über einem rötlich verfärbten, blutverdächtigem Untergrund zahlreiche feine Federn aufkleben.

Diese rötlichen Stellen werden zunächst einer chemischen Untersuchung (wie oben) unterzogen. Es ergibt sich, daß sie von Blut herrühren. Die biologische Reaktion auf Rehblut gab jedoch ein negatives Ergebnis. Da also Rehblut ausgeschlossen werden konnte, wurde entsprechend den Aktenangaben nunmehr geprüft, ob es sich um Entenblut handelte. Daß es Vogelblut war, dafür sprechen mit Wahrscheinlichkeit die aufsitzenden Federn.

Um darüber ins klare zu kommen, wurde eine mikroskopische Untersuchung des Blutes vorgenommen, d. h. es wurde versucht, die für Vögel charakteristischen ovalen kernhaltigen Blutkörperchen zur Darstellung zu bringen.

Zu dem Zweck wurden einige Krusten abgekratzt und auf dem Objektträger längere Zeit mit 30%iger Kalilauge behandelt, um die Blutkörperchen zur Aufquellung zu bringen. Bei der mikroskopischen Betrachtung konnte ich dann in der Tat in den Blutschollen ovale kernhaltige Blutkörperchen wahrnehmen. Ein noch schöneres Resultat ergab die Untersuchung nach Zusatz einiger Tropfen 5%iger Essigsäure zu dem blutverdächtigen Material, denn man sah hier im mikroskopischen Präparat äußerst zahlreiche, längliche ovale Kerne der Blutkörperchen in unzweideutiger Weise. Es war also außer Rehblut Vogelblut an dem Brett mit Sicherheit nachzuweisen. Ob es Entenblut

ist, müßte nunmehr durch die biologische Untersuchung entschieden werden. Nach einer auf Grund einer Anfrage inzwischen eingetroffenen Mitteilung des Landgerichtes M. reicht jedoch die Feststellung von Vogelblut vollkommen aus. Es wurde daher von einer weiteren Untersuchung Abstand genommen, zumal das Entenantiserum erst hätte vorbereitet werden müssen, was längere Zeit in Anspruch genommen haben würde.

ad 5. Am Eisenteil des Jagdgewehrs fanden sich einige rötlichbraune Stellen, die, wie die chemische Untersuchung ergab, nicht von Blut herrührten.

ad 6. Die Patronen wiesen blutverdächtige Stellen nicht auf.

Mein Gutachten lautet also: An dem Rucksack, den Papierfetzen und dem Brett befinden sich Flecken von Rehblut, am Brett außerdem Flecken von Vogelblut. Am Rucksack sind Rehhaare nachzuweisen.

K. ist der Wilddieberei eines Rehes überführt und verurteilt. Er bestreitet die Schuld und legt Revision ein. Mitangeklagt wegen Hehlerei ist ein Freund des K., D. Bei ihm wurde das blutbefleckte Fleischbrett und Papier gefunden. Schon wegen dieser Blutflecke galt er als dringend verdächtig. Jedoch wurde er mangels genügender Beweise freigesprochen, zumal da er behauptete, daß Blut rühre von wilden Enten her, die er vor kurzem geschossen habe und welche seine Frau auf dem Brette zurecht gemacht habe. Der Amtsanwalt, dem das Strafmaß zu niedrig erscheint und der die Schuld des D. für erwiesen erachtet, legt ebenfalls Berufung ein.

Das von mir erstattete Gutachten hat nun zur Evidenz erwiesen, daß, den Angaben des D. entsprechend, zwar Vogelblut auf dem Brett vorhanden war, aber auch Rehblut — was er entschieden bestritt. — Ebenso konnte das Blut an dem Papier als Rehblut erkannt werden.

Dieser Befund dürfte für die Schuld des D. absolut beweisend und für den weiteren Fortgang des Prozesses von geradezu ausschlaggebender Bedeutung sein.

Die Richtigkeit meines Befundes von Rehblut am Rucksack des K. ist bereits durch die erste Verhandlung, die zur Verurteilung des K. führte, auf Grund zwingender Indizien als erwiesen zu betrachten.

39.

Untersuchung eines Kinderhemdes. Das Hemd war in einem Keller aufgefunden. Es lag Verdacht auf Mord vor. Nähere Angaben fehlen.

Gutachten.

Auf Veranlassung der Königl. Staatsanwaltschaft St. ist mir ein Kinderhemd mit dem Ersuchen übersandt, die Herkunft der an ihm sich befindenden Blutflecken festzustellen.

Das Hemd zeigt, wie die äußere Besichtigung ergibt, eine sich über das ganze Gewebe erstreckende unregelmäßig fleckig-rötliche Verfärbung, die so aussieht, als ob sie von Blut herrührt. Außerdem sieht man auf dem Hemde zahlreiche schwarzbraune Schmutzflecken. Um mit Sicherheit festzustellen, ob die blutverdächtigen Flecken in der Tat von Blut herrühren, mußte zunächst die chemische Untersuchung vorgenommen werden.

Von den blutverdächtigen Stellen wurden kleine Stückchen herausgeschnitten und auf feuchtem Fließpapier ausgelaugt, bis das Fließpapier eine gelbraune Verfärbung zeigte. Diese so entstandenen Flecken wurden sodann mit ozonhaltigem Terpentinöl und alkoholischer Guajaklösung übergossen. Es trat sofort eine intensive Blaufärbung auf, wie sie für den Nachweis von Blutfarbstoff charakteristisch ist. Außer dieser van Deenschen Ozonprobe wurde die Wasserstoffsuperoxydprobe ausgeführt, d. h. es wurden die blutsverdächtigen Flecken mit 3%igem Wasserstoffsuperoxyd übergossen. Sofort zeigte sich nun auf dem Fleck eine starke Schaumbildung von schön weißer Farbe (Katalyse), wie man sie bei Vorhandensein von Blut zu beobachten pflegt.

Ferner wurde die Teichmannsche Häminprobe angestellt. Auf einen Objektträger wurde von dem blutverdächtigen Material etwas ausgelaugt und der ausgelaugte Fleck mit einem Körnchen NaCl und einigen Tropfen Eisessig versetzt. Das Ganze wurde sodann über der Flamme leicht erhitzt und mikroskopisch untersucht. Man sah nun bei mikroskopischer Beobachtung zahlreiche rhombische gelbbraune Stäbchen, sog. Teichmannsche Häminkristalle, was für das Vorhandensein von Blut absolut beweisend ist.

Nachdem festgestellt war, daß die rötlichen Flecken des Hemdes in der Tat von Blut herrührten, mußte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden. Diese erfolgt nach der von Uhlenhuth angegebenen Methode.

Es wurde eine Lösung aus den Blutflecken des Hemdes mit physiol. NaCl hergestellt und unter Berücksichtigung der von mir vorgeschriebenen quantitativen Verhältnisse ein gewisses Quantum Blutserum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Schon nach wenigen Augenblicken war in dieser Lösung ein starker Niederschlag entstanden, während alle anderen zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen anderer Tiere vollständig klar blieben. Auch normales Kaninchenserum gab bei Zusatz zur Blutlösung des Hemdes keine Trübung.

Aus diesem Befund ergab sich, daß die Blutflecken, falls Affenblut auszuschließen ist, von Menschenblut herrühren.

Sämtliche von mir untersuchten Blutflecken an den verschiedensten Stellen des Hemdes lieferten dasselbe Ergebnis.

40.

Großherzogl. Staatsanwaltschaft, E., 21. Januar 1908.
Landgericht K. Nr. 1885, Tab. Nr. A 6.

Haftsache.

Unter Bezugnahme auf das Ersuchen der Großherzogl. Staatsanwaltschaft K. vom 18. Januar 1908 übersenden wir Euer Hochwohlgeboren anbei:

a) den Rock des Beschuldigten Matheus B., b) dessen Hose, c) dessen Jagdmesser.

Von Übersendung des Hemdes haben wir abgesehen, weil die auf dem Hemd befindlichen Blutspuren erst nachträglich — nach der Festnahme des Beschuldigten — auf das Hemd gekommen sind und feststeht, daß das in Frage kommende Hemd nicht beim Wildern getragen wurde. Besonders wichtig ist nur, ob mit Sicherheit gesagt werden kann, daß die auf den Kleidern befindlichen Flecken nicht Menschenblut, sondern Rehblut sind, und daß am Jagdmesser kein Kälber- sondern Rehblut sich befindet.

Einzelne Rehhaare an den Kleidern stammen davon her, daß die Kleider — ungeschickterweise — in dem Rucksack eines Jagdhüters hierher verbracht wurden.

Die Überführungsstücke bitten wir seiner Zeit hierher zurückzuschicken, das Gutachten dagegen unmittelbar der Großherzogl. Staatsanwaltschaft in K. zu erstatten.

Gutachten.

In der Untersuchungssache gegen Mattheus B. von B. und Genossen wegen Jagdvergehens sind mir vom Großherzoglichen Amtsgericht E. unter dem 21. Jan. 1908, Nr. 933 folgende Gegenstände, a) der Rock des Beschuldigten B.; b) dessen Hose; c) dessen Jagdmesser übersandt mit dem Ersuchen festzustellen:

1. ob die an den Kleidungsstücken befindlichen Blutflecken von Menschen- oder Rehblut herrühren.

2. ob die an dem Jagdmesser etwa vorhandenen Blutspuren von Kälber- oder Rehblut herstammen.

Rock des B.: Die äußere Besichtigung ergibt folgenden Befund:

Auf der Klappe der rechten unteren Rocktasche befindet sich in der Gegend des Klappenansatzes ein unregelmäßiger, horizontal verlaufender 3 cm langer und 0.5 cm breiter, verwaschen aussehender, braunroter Fleck, der sich von der braunen Farbe des Rockes nur undeutlich abhebt.

Der Taschenrand zeigt ebenfalls eine auf Blut verdächtige braunrote Färbung. Um den Beweis zu erbringen, daß diese blutverdächtigen Flecken in der Tat von Blut herrühren, wurde zunächst als Vorprobe die Wasserstoffsuperoxyd-

reaktion angestellt. Sie beruht auf der Tatsache, daß Wasserstoffsuperoxydlösung beim Zusammentreffen mit Blut eine starke Schaumbildung in Gestalt von kleinsten weißen Bläschen erzeugt. Die Reaktion erwies sich als positiv. Als weitere Vorprobe wurde die VAN DEENsche Guajakprobe ausgeführt.

Zu diesem Zwecke wurden kleine Partikelchen des blutverdächtigen Materials abgekratzt, zerzupft und mit Wasser auf einem Stückchen Filtrierpapier ausgelaugt, so daß an dieser Stelle das Papier gelblich gefärbt erschien. Dieser gelblich gefärbte Fleck wurde mit ozonhaltigem Terpentinöl und alkoholischer Guajaklösung übergossen. Sofort trat eine intensive Blaufärbung auf, wie sie für das Vorhandensein von Blutfarbstoff charakteristisch ist.

Weiterhin wurde die TEICHMANNsche Häminprobe angestellt. Kleine Partikelchen des blutverdächtigen Materials wurden abgekratzt und mit einigen Körnchen Kochsalz und wenigen Tropfen Eisessig versetzt. Das Ganze wurde sodann über der Flamme auf einem Objektträger erhitzt und mikroskopisch untersucht. Man sah bei mikroskopischer Betrachtung einzelne rhomboide, gelbbraune Stäbchen, sog. Häminkristalle. Durch diesen Befund war der Nachweis von Blut mit Sicherheit erbracht.

Es konnte nunmehr zur Bestimmung der Herkunft des Blutes geschritten werden. Sie erfolgt nach der von mir angegebenen Methode. Die Methode beruht auf der Tatsache, daß das Blutserum eines mit einer bestimmten Blutart längere Zeit vorbehandelten Kaninchens die Eigenschaft besitzt, in der zur Vorbehandlung benutzten Blutart einen Niederschlag zu erzeugen, nicht aber in anderen Blutarten. Zunächst sollte festgestellt werden, ob die Flecken von Menschenblut herrührten. Aus den Flecken wurde mit physiologischer Kochsalzlösung durch längeres Auslaugen ein Extrakt hergestellt. Zu dieser extrahierten Flüssigkeit wurde dann unter Beobachtung bestimmter quantitativer Vorschriften eine kleine Menge Serum eines mit Menschenblut vorbehandelten Kaninchens zugesetzt. Das diese Flüssigkeit enthaltende Röhrchen zeigte nach Zusatz dieses Serums keine Trübung, die Flüssigkeit blieb vollkommen klar, während dasselbe Serum zu einer ebenso stark verdünnten Menschenblutlösung zugesetzt sofort einen starken Niederschlag erzeugte. Es konnte sich also nicht um Menschenblut handeln.

Es wurde nunmehr die aus den Flecken extrahierte Lösung auf Rehblut untersucht und zwar mit Hilfe eines auf Rehblut spezifisch wirkenden Kaninchenserums. Jetzt trat sofort beim Zusatz dieses Serums eine starke Trübung auf, die sich bald als Niederschlag am Boden des Röhrchens absetzte. Die zur Kontrolle herangezogenen Blutlösungen vom Reh zeigten dieselbe typische Reaktion, in anderen Blutlösungen Pferd, Rind, Mensch usw. trat keine Trübung auf. Auch normales Kaninchenserum erzeugte keine Trübung.

Es handelte sich auf Grund dieser Untersuchung um Rehblut. Jedoch bedarf dieser Befund einer Einschränkung. Es könnte sich nämlich um Hirschblut handeln, denn auch im Hirschblut tritt mit einem spezifischen Rehblutantiserum eine Reaktion auf, ein Beweis für die nahe Verwandtschaft dieser Tiere. Auch im Hammel- und Ziegenblut tritt eine wenn auch viel schwächere Trübung auf. Nach meinen vergleichenden Prüfungen quantitativer Art dürfte Hammel- und Ziegenblut wohl auszuschließen sein. Das Vorhandensein von Hirschblut kann auf Grund meiner Untersuchung jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Wenn nach den Aktenangaben und den richterlichen Feststellungen Menschen- oder Rehblut in Betracht kommt, kann es sich im vorliegenden Falle nur um Rehblut nicht um Menschenblut handeln.

Ein weiterer blutverdächtiger Fleck befand sich am Rock links unten in der Nähe des zweiten Knopflochs. Die in derselben Weise ausgeführte Untersuchung ergab das gleiche Resultat; es handelte sich auch hier um Rehblut nicht um Menschenblut. Eine auf dem Rückenteil in der Mitte zwischen Mittelnaht und linkem Ärmelansatz befindlicher roter bohnengroßer Fleck konnte auf Grund der chemischen Untersuchung nicht auf Blut zurückgeführt werden.

Hose: Die Hose zeigte an der Rückseite des rechten Hosenbeins, 3 cm von der äußeren seitlichen Naht und 30 cm oberhalb der rechten Hosenbeinöffnung einen bohnengroßen, blutverdächtigen Fleck. Die Untersuchung dieses Fleckens ergab das Vorhandensein von Rehblut; Menschenblut konnte mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Messer: An den Seitenteilen des Jagdmessers fanden sich einige rötlichbraune Stellen, die, wie die Untersuchung ergab, nicht von Blut herrührten, höchstwahrscheinlich sind es Rostflecken.

Auf Grund vorstehender Untersuchung gebe ich mein Gutachten folgendermaßen ab.

Am Rock und an der Hose des Beschuldigten lassen sich Blutflecken nachweisen, die nicht von Menschenblut, sondern von Rehblut — mit oben genannter Einschränkung — herrühren. Am Jagdmesser haben sich Blutspuren nicht nachweisen lassen.

Uhlenhuth.

Nachdem in zahlreichen Fällen der Praxis die biologische Methode wichtige Aufschlüsse über die Herkunft verdächtiger Blutflecke ergeben hatte, ist diese Methode in zahlreichen Ländern und Staaten durch offizielle Verfügungen in die forensische Praxis eingeführt, so in Preußen, Österreich, Württemberg, Baden, Elsaß usw.

Verfügungen.

I.

Preußen.

Erlaß betr. die von dem Stabsarzt Prof. Dr. Uhlenhuth in Greifswald ermittelte Methode der Blutuntersuchung vom 8. September 1903.

Von dem Stabsarzte Professor Dr. Uhlenhuth in Greifswald ist eine Methode der Blutuntersuchung ermittelt worden, welche es ermöglicht, die Art des zu untersuchenden Blutes festzustellen und namentlich Menschenblut mit Sicherheit von Tierblut zu unterscheiden. Bei der Behandlung des zu untersuchenden Blutes mit Serum aus dem Blute von Kaninchen, denen zuvor Blut anderer Tiere oder Menschenblut eingespritzt war, ergeben sich bestimmte Erscheinungen, wenn das zu untersuchende Blut von derselben Art ist, wie das zuvor den Kaninchen eingespritzte. Es kann deshalb jede Art von Blut, wenn das entsprechende Serum angewendet wird, bestimmt werden. Die wissenschaftliche Deputation für das Medizinalwesen hier hat sich über den Wert der Methode mit Hervorhebung von deren großen Bedeutung wie folgt geäußert:

„Die Erfahrungen über die Serummethode der Blutuntersuchung sind bereits in Deutschland wie im Auslande so ausgedehnte, die Resultate der Forschungen im wesentlichen so übereinstimmende, daß kein Zweifel mehr darüber bestehen kann, daß diese neue biologische Methode in der Mehrzahl der Fälle mit großer Sicherheit gestattet, frisches sowie angetrocknetes Blut nach seiner Herkunft zu bestimmen, Menschenblut von Tierblut, Blut verschiedener Tierarten zu unterscheiden. Es ist daher dringend geboten, diese vortreffliche Methode, welche natürlich die alten bewährten Methoden des Blutnachweises nicht verdrängen, sondern nur ergänzen und vervollständigen soll, für die gerichtliche Praxis allgemein nutzbar zu machen."

Als Institute, bei denen diese Methode seit längerer Zeit zur Anwendung gelangt, werden bezeichnet:

Das hygienische Institut der Universität Greifswald;
Das Institut für Infektionskrankheiten in Berlin, Nordufer 39;
Das Institut für Staatsarzneikunde in Berlin;
Das Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

Diese Institute werden in erster Linie für die Vornahme von Untersuchungen der in Rede stehenden Art empfohlen.

Indem ich auf diese Methode der Blutuntersuchung aufmerksam mache, empfehle ich, in allen Fällen die Untersuchungen nach ihr ausführen zu lassen.

Abdrücke dieser Verfügung sind zur weiteren Mitteilung an die Landesgerichtspräsidenten und die Ersten Staatsanwälte des dortigen Bezirks beigefügt.

Der Justizminister
I. A.: gez. Vietsch.

(Siehe Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes 1903, Bd. XXVII, Jahrgang 42.)

II.

Österreich.

A. Verordnung des Justizministeriums im Einvernehmen mit den Ministerien des Innern und für Kultus und Unterricht betr. die biochemische Untersuchung von Blutspuren im Strafverfahren. Vom 13. Aug. 1903. (Österr. San.-Wesen, pag. 358.)

Neben der bisherigen mikroskopischen Methode, Blutspuren auf ihre Herkunft zu untersuchen, welche Methode in der Anwendung vielfach auf Schwierigkeiten stößt und häufig nicht zu zuverlässigen Ergebnissen führt, besteht gegenwärtig eine neue biochemische (die sogenannte Uhlenhuthsche) Methode. Ihr Wesen besteht darin, daß durch wiederholte Einspritzung des Blutserums eines bestimmten Tieres, z. B. eines Hundes, in das Blut eines Tieres, z. B. eines Kaninchens, sich im letzteren gewisse „Präzipitine" genannte Stoffe bilden, welche die Eigenschaft haben, nur aus dem Blutserum desselben Tieres (des Hundes) eine Eiweisfällung zu erzeugen, während das Blutserum jeder anderen Tierart klar bleibt. Es wurde nun vorläufig bei dem gerichtlich-medizinischen Institute der Wiener Universität die Vornahme derartiger Untersuchungen zu strafgerichtlichen Zwecken ermöglicht, zu welchem Zwecke das staatliche serotherapeutische Institut in Wien das erforderliche Serum beistellt. Die Benutzung dieser Einrichtung erfolgt derart, daß die Gerichte dem gerichtlich-medizinischen Institute der Wiener Universität die betreffenden, auf Blutspuren zu untersuchenden Gegenstände in sorgfältiger Verwahrung und mit genauer Bezeichnung zum Zwecke der Untersuchung einsenden. Zugleich haben die Gerichte dem zu untersuchenden Institute die Fragen bekannt zu geben, zu deren Beantwortung die Untersuchung des Blutes führen soll und jene Ergebnisse des Verfahrens mitzuteilen, die es dem Institute so weit als tunlich ermöglichen sollen, zu beurteilen, welche Blutspuren in Frage kommen (menschliches Blut, Tierblut im allgemeinen oder Blut von bestimmten Tiergattungen).

Besteht beispielsweise der Verdacht, daß die Spuren von Menschenblut herrühren, geht aber die Verantwortung des Beschuldigten dahin, daß sie von einer bestimmten Tiergattung stammen, so wäre dem Institute auch dieser Umstand mitzuteilen, damit die Prüfung auch auf das Blut dieser Tiergattung erfolgen könne. Es ist die Einrichtung getroffen, daß die Untersuchung bei dem genannten Institute vorläufig sowohl nach der bisherigen mikroskopischen, als nach der neuen biochemischen Methode vorgenommen wird, um dadurch eine erhöhte Garantie und Kontrolle zu erzielen.

Von der aus dieser Einrichtung zu gewinnenden Erfahrung und der Zahl der Untersuchungsfälle wird es abhängen, ob und in welchem Umfange solche Untersuchungen in Zukunft auch an anderen gerichtlich-medizinischen Instituten einzuführen sind.

Was die Kosten dieser Untersuchung anbelangt, so wird das genannte Institut die im Gebührentarife vom 20. März 1901 unter Post. A, 3, C angeführten Gebühren beanspruchen, welche von den Gerichten fallweise dem Institute einzusenden und als Kosten des Strafverfahrens zu verrechnen sind. (V.-Bl. des Just.-Min. Nr. 25, S. 208).

(S. Veröffentl. des Kaiserl. Gesundheitsamtes, XXVII. Jahrg., Nr. 41, 14. Okt. 1903.)

B. Verordnung des Justizministeriums im Einvernehmen mit den Ministerien des Innern und für Kultus und Unterricht vom 23. März 1907, betreffend die biochemische Untersuchung von Blutspuren im Strafverfahren.

Mit der Verordnung vom 13. August 1903, Just.-Min. V.-Bl. Nr. 25, wurde den Gerichten und Staatsanwaltschaften bekannt gegeben, daß vorläufig in dem gerichtlich-medizinischen Institute der Wiener Universität Einrichtungen getroffen wurden, um die neue biochemische Methode, Blutspuren auf ihre Herkunft zu untersuchen, für strafgerichtliche Zwecke zu verwerten. Die hier und in anderen in- und ausländischen Instituten durchgeführten zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen haben ergeben, daß die Eiweißdifferenzierung in Form der biochemischen Methode tatsächlich ein verläßliches Mittel sei, um frisches sowie eingetrocknetes Blut nach seiner Herkunft zu bestimmen, Menschenblut vom Tierblut und Blut verschiedener Tiergattungen zu unterscheiden.

Um die Benutzung dieser Methode für gerichtliche Zwecke zu erleichtern, werden vom 1. Mai d. J. angefangen auch die gerichtlich-medizinischen Institute der Universitäten Prag, Krakau, Lemberg, Graz und Innsbruck derartige Blutuntersuchungen auf Ersuchen der Gerichte vornehmen und es werden sich die Gerichte der Oberlandesgerichtssprengel Wien, Prag, Krakau, Lemberg, Graz und Innsbruck an das gerichtlich-medizinische Institut der in ihrem Oberlandesgerichtssprengel gelegenen Universitäten, die Gerichte des Oberlandesgerichtssprengels Brünn an die Institute der Universitäten Wien oder Prag und die Gerichte des Oberlandesgerichtssprengels Triest und Zara an das Institut der Universität Graz zu wenden haben.

Die Zahl der an das gerichtlich-medizinische Institut der Wiener Universität gelangten Ersuchen war eine verhältnismäßig geringe und es werden die Gerichte angewiesen, in allen Fällen, in denen Blutspuren auf ihre Provenienz zu prüfen sind und nicht besondere Umstände eine Ausnahme rechtfertigen, die vorgenannten Universitätsinstitute wegen Vornahme der Untersuchung in Anspruch zu nehmen. Bei diesen Ersuchen sind die in Absatz 3 der Verordnung vom 13. August 1903 gegebenen Direktiven über die Verwahrung und Bezeichnung der einzelnen Gegenstände, über die Bekanntgabe der für die wissenschaftliche Untersuchung relevanten Ergebnisse des Verfahrens und die dem Institute vorzulegenden Fragen zu beachten.

Die Institute werden neben der biochemischen Methode auch noch die mikroskopische oder die spektroskopische Methode, nach Erfordernis alle drei Methoden anwenden, um dadurch eine erhöhte Garantie zu erreichen. Das erforderliche Serum wird von dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien hergestellt.

Die Vorschrift des letzten Absatzes der Verordnung vom 13. August 1903 über die Vergütung der Kosten hat für alle Institute zu gelten.

Klein.

III.

Württemberg.

Bekanntmachung des Justizministeriums vom 14. Oktober 1904, betreffend die Uhlenhuthsche Methode der Blutuntersuchung.

Von dem Stabsarzte Professor Dr. Uhlenhuth in Greifswald ist eine neue Methode der Blutuntersuchung ermittelt worden, welche es ermöglicht, die Art des zu untersuchenden Blutes festzustellen und namentlich Menschenblut mit Sicherheit von Tierblut zu unterscheiden. Bei der Behandlung des zu untersuchenden Blutes mit Serum aus dem Blute von Kaninchen, denen zuvor Blut anderer Tiere oder Menschenblut eingespritzt war, ergeben sich bestimmte Erscheinungen, wenn das zu untersuchende Blut von derselben Art ist wie das zuvor dem Kaninchen eingespritzte. Es kann deshalb jede Art Blut, wenn das entsprechende Serum angewendet wird, bestimmt werden.

Das Kgl. Medizinalkollegium hat die Entwicklung und Ausbildung dieser biochemischen Methode der Blutuntersuchung seit ihrer Entdeckung mit Interesse verfolgt und sich dahin ausgesprochen, daß der Wert dieser Untersuchungsmethode unbestreitbar sei. Das Kgl. Medizinalkollegium ist in der Lage, derartige Untersuchungen in seinem hygienischen Laboratorium, medizinische Abteilung, ausführen zu können.

Hiernach wird den Gerichten und Staatsanwaltschaften empfohlen, sich vorkommendenfalls dieser neuen, auch von der Kgl. preußischen wissenschaftlichen Deputation für das Medizinalwesen anerkannten Methode der Blutuntersuchung zu bedienen und sich dieserhalb an das hygienische Laboratorium, medizinische Abteilung, des Kgl. Medizinalkollegiums in Stuttgart zu wenden.

Stuttgart, den 14. Oktober 1904. Breitling.

(Siehe Amtsblatt des Königl. Württembergischen Justizministeriums. Jahrg. 1904 [5. November] Nr. 8).

IV.

Baden.

Bekanntmachung des Ministeriums der Justiz, des Kultus und Unterrichts vom 8. Februar 1905. Blutuntersuchungen betreffend.

An die Großh. Landgerichte, Großh. Staatsanwaltschaften (einschl. des Herrn Staatsanwalts in Pforzheim) und die Großh. Amtsgerichte.

Von dem Stabsarzt Professor Dr. Uhlenhuth in Greifswald ist eine Methode der Blutuntersuchung ermittelt worden, welche es ermöglicht, die Art des zu untersuchenden Blutes festzustellen und namentlich Menschenblut mit Sicherheit von Tierblut zu unterscheiden. Die Methode ist ein sogenanntes sero-diagnostisches Verfahren, darauf beruhend, daß das Serum (Blutwasser) eines mit einer bestimmten Blutsorte in entsprechender Weise vorbehandelten Kaninchens nur wieder in gleichartiger Blutlösung eine bestimmte Reaktion hervorruft, die sich zunächst in einer Trübung der Lösung, späterhin in Flocken- und Bodensatzbildung äußert.

Im hygienischen Institut der Universität Heidelberg sind die zu Vornahme derartiger Blutuntersuchungen erforderlichen Einrichtungen getroffen; wir empfehlen den Gerichten und Staatsanwaltschaften, in geeigneten Fällen hiervon Gebrauch zu machen.

In Vertretung:
Jübbe.

Änliche Verfügungen sind in Elsaß-Lothringen (10. April 1905), Bayern, Luxemburg, Rußland, Rumänien, Ägypten usw. erlassen worden.

B. Technik und Methodik des biologischen Verfahrens für den Nachweis verschiedener Fleischarten (Pferdefleisch usw.)*).

Ein solcher Nachweis würde praktisch in Frage kommen

1. für die Fleischbeschau,
2. für die Nahrungsmitteluntersuchung.

Beschäftigen wir uns nun zunächst mit der Anwendung und dem Wert des biologischen Verfahrens für die

Fleischbeschau.

Ehe wir näher darauf eingehen, wollen wir in Kürze die für die Einfuhr von Fleisch in Deutschland gesetzlich vorgeschriebenen Maßnahmen besprechen:

„Das in das Inland eingehende frische Fleisch darf nur in ganzen Tierkörpern, zubereitetes Fleisch (Pökel-, Salz- und geräuchertes Fleisch usw.) dagegen nur in Stücken, die mindestens 4 kg schwer sind, eingeführt werden. Die Einfuhr von Fleisch in luftdichten, verschlossenen Büchsen oder in ähnlichen Gefäßen, sowie von Würsten und sonstigen Gemengen aus zerkleinertem Fleische ist verboten; ebensowenig darf Hundefleisch sowie zubereitetes Fleisch, welches von Pferden, Eseln, Mauleseln oder anderen Tieren des Einhufergeschlechts herrührt, eingeführt werden."

Da frisches Fleisch nur in ganzen Tierkörpern eingeführt werden darf, so wird es bezüglich seiner Herkunft zu Verwechslungen kaum Veranlassung geben. In der Praxis würde es sich nur darum handeln, daß zubereitetes Fleisch von Pferden und anderes Einhuferfleisch unter falscher Deklaration einzuführen versucht würde.

Der bei der Auslandsfleischbeschau als Sachverständiger fungierende Tierarzt wird häufig schon bei einfacher makroskopischer Besichtigung die Herkunft des Fleisches bestimmen können. Erweckt das Fleisch infolge der Farbe der Muskulatur, Farbe und Konsistenz des Fettgewebes, Hervortreten der Faszien den Verdacht, daß es sich um Pferdefleisch handeln könnte, so ist nach den neuen, am 1. April 1908 in Kraft getretenen Ausführungsbestimmungen zum Fleischbeschaugesetz **in erster Linie die biologische Methode** anzuwenden. Sofern die Untersuchung, z. B. bei ungeeigneter Beschaffenheit des Materials (gekochtes Fleisch) nicht zu einem entscheidenden Ergebnisse führt, ist die chemische Untersuchung (Bestimmung der Jod- und Refraktometerzahl) vorzunehmen.

Was die chemische Untersuchung des Fleisches betrifft, so ist das früher vorgeschriebene Verfahren, welches auf der Bestimmung des Glykogens beruht, als unzuverlässig aufgegeben worden. Im übrigen sei auf die Bekanntmachung betr. Änderung der Ausführungsbestimmungen D nebst Anlagen a, b, c und d zum Schlachtvieh- und Fleischbeschaugesetzes vom 22. Februar 1908 hingewiesen (Zentralbl. für das Deutsche Reich, pag. 59); Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes 1908, Nr. 15).

*) Siehe Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXVIII, Heft 3.

Die Anlage d enthält eine „Anweisung über die chemische Untersuchung von Fleisch und Fetten". Es heißt dort:

Anweisung
für die chemische Untersuchung von Fleisch und Fetten.

Erster Abschnitt.
Untersuchung von Fleisch ausschließlich zubereiteter Fette.

(Vgl. §§ 11 bis 14 und 16 der Ausführungbestimmungen D)

Proben, bei denen ein bestimmter Verdacht vorliegt, sind zunächst auf den Verdachtsgrund zu untersuchen.

I. Bei der Untersuchung auf Grund von § 5 Nr. 2 der Ausführungsbestimmungen D kommt für die chemische Untersuchung lediglich der Nachweis von Pferdefleisch in Frage. Zur Untersuchung sind die beiden nachstehend unter Nr. 1 und 2 bezeichneten Verfahren anzuwenden. Der Nachweis ist nur dann als erbracht anzusehen, wenn beide Verfahren zu einem positiven Ergebnisse geführt haben.

1. Verfahren, welches auf der Bestimmung des Brechungsvermögens des Pferdefettes beruht.

Aus Stücken von 50 g möglichst mit fetthaltigem Bindegewebe durchsetztem Fleische wird das Fett durch Ausschmelzen bei 100° oder, falls dies nicht möglich ist, durch Auskochen mit Wasser gewonnen und im Zeiss-Wollnyschen Refraktometer nach der im zweiten Abschnitt unter IIIa gegebenen Anweisung (s. daselbst) zwischen 38° und 42° geprüft. Wenn die erhaltene Refraktometerzahl auf 40° umgerechnet den Wert 51,5 übersteigt, so ist auf die Gegenwart von Pferdefleisch zu schließen.

2. Verfahren, welches auf der Bestimmung der Jodzahl des Pferdefettes beruht.

Aus Stücken von 100—200 g möglichst mit fetthaltigem Bindegewebe durchsetztem Fleische wird das Fett in der gleichen Weise wie beim Verfahren unter 1 gewonnen und seine Jodzahl nach der im zweiten Abschnitt unter IIIb gegebenen Anweisung (s. daselbst) bestimmt. Unter den vorliegenden Umständen ist die Anwesenheit von Pferdefleisch als erwiesen anzusehen, wenn die Jodzahl des Fettes 70 und mehr beträgt.

Für die praktische **Anwendung der biologischen Methoden im Rahmen des Fleischbeschaugesetzes** würde frisches, gefrorenes, ausgetrocknetes, geräuchertes, gepökeltes, gekochtes und etwa faulendes Fleisch (falls es nicht bereits als solches beanstandet wird) zur Untersuchung gelangen. In allen diesen Fällen gibt die biologische Reaktion über die Herkunft des Fleisches Auskunft.

Die Handhabung und richtige Beurteilung der Ergebnisse der biologischen Fleischdifferenzierung erfordert, ebenso wie die der Blutuntersuchung, eine gewisse Übung und Erfahrung, so daß der mit diesen Untersuchungen betraute Sachverständige Gelegenheit nehmen muß, sich in einem besonderen Kursus an geeigneter Stelle mit den Einzelheiten der Methode vertraut zu machen. Derartige Kurse werden zurzeit unter Uhlenhuths Leitung im Kaiserl. Gesundheitsamte abgehalten.

Die folgenden Ausführungen sollen eine Anweisung geben, wie die biologischen Fleischuntersuchungen stattzufinden haben und wie sich die dabei event. auftretenden Schwierigkeiten am besten vermeiden lassen. Die Tecknik und Methodik ist im wesentlichen dieselbe wie die der biologischen Blutdifferenzierung.

Ehe der Sachverständige die Verarbeitung des Untersuchungsmaterials für die biologische Methode in Angriff nimmt, muß er sich vergewissern, daß ihm ein brauchbares, spezifisch wirkendes Serum zur Verfügung steht. Diese Prüfung ist in analoger Weise auszuführen, wie sie auf pag. 44 beschrieben.

Bei der Ausführung der biologischen Untersuchung auf Pferdefleisch sind ebenso wie bei der biologischen Blutdiffe-

renzierung folgende allgemeine Arbeitsgrundsätze peinlich zu beachten:

1. Alle zu benutzenden Gefäße, Röhrchen und Instrumente müssen sauber und steril sein.
2. Sämtliche Flüssigkeiten, die bei der Ausführung der Methode benutzt werden, müssen absolut klar und steril sein.

Unter Beobachtung dieser Grundsätze wird das biologische Verfahren zum Nachweis von Pferdefleisch für die Fleischbeschau etwa in folgender Weise*) auszuführen sein:

Mit einem ausgeglühten oder ausgekochten Messer schabt man aus der Tiefe des möglicht mageren Fleischstückes etwa 30 g von einer frisch hergestellten Schnittfläche ab. Bei sehr zähem Fleisch wird es sich empfehlen, die Zerkleinerung mit Hilfe eines ausgekochten Hack- oder Wiegemessers vorzunehmen. Es ist notwendig, das Untersuchungsmaterial von einer frisch hergestellten Schnittfläche aus dem Innern des Fleischstückes zu entnehmen, denn die äußeren Partien des zu untersuchenden verdächtigen Fleischstückes können mit anderen Fleischsorten in Berührung gekommen sein. Das würde bei der Empfindlichkeit der Reaktion unter Umständen zu Täuschungen Veranlassung geben können. Die Entnahme und Zerkleinerung des Materials ist selbstverständlich auf einer absolut sauberen Unterlage vorzunehmen, die vor allem nicht mit irgend welchen anderen Eiweißstoffen in Berührung gekommen ist. Es empfiehlt sich, das verdächtige Fleischstück z. B. auf ungebrauchtes Schreibpapier zu legen. Sind in dem zu untersuchenden Fleische fette und magere Partien vorhanden, so sind die mageren auszuwählen, da bei diesen die Eiweißauslaugung besser vor sich geht und auch die Filtration einer brauchbaren klaren Lösung viel weniger Schwierigkeiten verursacht. Die zerkleinerte Fleischmasse wird zweckmäßig in ein ausgekochtes oder sonst durch Hitze sterilisiertes etwa 100 ccm fassendes Erlenmeyersches Kölbchen gebracht, mit Hilfe eines ausgekochten resp. sterilisierten Glasstabes auf den Boden des Kölbchens gleichmäßig verteilt und mit etwa 50 ccm steriler 0,85%iger Kochsalzlösung übergossen. Andere Lösungsmittel wie z. B. Brunnen-, Leitungs-, oder destilliertes Wasser sind zur Auslaugung nicht zu benutzen (s. oben), denn diese geben bereits beim Zusatz eines ganz beliebigen Blutserums Trübungen und bisweilen sogar Niederschläge (Uhlenhuth). Diese Trübungen, die auf dem Ausfallen von Globulinen zu beruhen scheinen, sind bei den verschiedenen Serumarten verschieden stark und treten besonders eklatant beim Pferdeserum auf. Gesalzenes Fleisch kann man zuvor in einem größeren sterilen Erlenmeyerschen Kolben entsalzen, indem man es mit physiologischer Kochsalzlösung oder sterilem destilliertem Wasser (Schüller) übergießt und die Flüssigkeit ohne zu schütteln während 10 Minuten mehrmals erneuert. Das Gemisch von Fleisch und 0,85%iger Kochsalzlösung bleibt zur Ausziehung der im Fleische vorhandenen Eiweißsubstanzen etwa 3 Stunden bei Zimmertemperatur oder über Nacht im Eisschrank stehen. Bei frischem Fleisch wird in den meisten Fällen bereits nach einer Stunde die für die biologische Reaktion

*) Die Anweisung für die biologische Untersuchung auf Pferdefleisch, wie sie in den obenerwähnten neuen, am 1. April 1908 in kraft getretenen Ausführungsbestimmungen zum Fleischbeschau-Gesetz enthalten ist, s. unten unter **Verfügungen.**

nötige Eiweißkonzentration erreicht sein; bei gepökeltem resp. geräuchertem Fleisch dauert dagegen die Auslaugung je nach dem Grad der Pökelung respektive Räucherung mehr oder weniger lange. Proben von den Randpartien derartig zubereiteten Fleisches, d. h. von den Stellen, die der Einwirkung der konservierenden Behandlung am meisten ausgesetzt gewesen sind, haben oft erst nach 24stündigem Auslaugen eine für die Reaktion brauchbare Lösung ergeben. Stehen aber dem Sachverständigen mindestens 4 kg schwere Stücke — wie das bei der amtlichen Fleischbeschau der Fall ist — zur Verfügung und nimmt er sein Untersuchungsmaterial aus der Tiefe des Fleischstückes, d. h. von den Partien, die den Konservierungsmitteln am wenigsten ausgesetzt gewesen sind, so genügt fast in allen Fällen eine 3stündige Auslaugung. Bei stark faulendem Fleisch, das aber in der Auslandsfleischbeschau wohl kaum zur biologischen Untersuchung gelangen wird, da es schon sowieso beanstandet wird, haben wir oft erst nach 12—24 Stunden eine brauchbare Eiweißlösung erhalten können.

Durch Schütteln eine Beschleunigung der Lösung zu erzielen, ist im allgemeinen nicht ratsam, denn es werden dabei die in dem Fleische vorhandenen feinsten Fettkügelchen mit losgerissen, die eine unerwünschte Trübung der Eiweißlösung verursachen. Auch verhindern sie, indem sie auf der Oberfläche schwimmen, die beim Schütteln der Probelösung im Reagenzglase auftretende Schaumbildung, die uns, wie wir gleich sehen werden, zu erkennen geben soll, ob bereits eine für die Untersuchung genügend starke Eiweißlösung vorhanden ist. Zur Beschleunigung einer brauchbaren Lösung, besonders bei fettem Fleisch, ist der Zusatz einiger Tropfen Chloroform zu empfehlen (Uhlenhuth).

Die Erkennung, ob eine genügende Menge der Eiweißkörper des Fleisches in Lösung übergegangen ist, kann einige Schwierigkeiten verursachen. Die Fleischeiweißlösung soll in 300 Teilen ungefähr 1 Teil Fleischeiweiß enthalten. Wir wählen diese Konzentration aus folgendem Grunde. Ausgepreßter reiner Muskelsaft 1:300 verdünnt, gibt mit dem auf Pferdeblutserum eingestellten Antiserum mit dem vorgeschriebenen Titer (s. unten) eine ebenso prompte und starke Reaktion, wie Pferdeserum in einer Verdünnung von 1:1000. Während man nun mit ausgepreßtem Muskelsaft genau den geforderten Verdünnungsgrad herstellen kann, so ist das bei der in der angegebenen Weise hergestellten ausgelaugten Fleischlösung nur annähernd auf empirischem Wege zu erreichen, da der Grad der Löslichkeit der Eiweißkörper ganz verschieden ist; er ist bei frischem Fleische abhängig von dem Blut- und Fettgehalt, bei zubereitetem Fleische außerdem noch von der Einwirkung der Konservierungsmittel.

Zur Orientierung, ob in der angesetzten Fleischlösung bereits eine genügende Menge Eiweißkörper vorhanden ist, werden etwa 2 ccm der Lösung in ein steriles Reagenzglas gegossen und stark geschüttelt. Eine einige Zeit bestehen bleibende Schaumbildung ist ein Zeichen, daß die Lösung brauchbar ist. Ob wir es nun aber mit einer Verdünnung von 1:50 oder 1:300 zu tun haben, läßt sich auf Grund der Stärke der Schaumbildung nicht sicher sagen. Oft kommt es vor, daß konzentrierte Fleischlösungen viel weniger Schaumbildung zeigen als mittelstarke. Es ist das abhängig von dem Fettgehalt der Fleischeiweißlösung; wäre derselbe bei allen Fleischlösungen der gleiche, so würde man auch hier wie bei den Blut- und Serumlösungen eine ziemliche Regelmäßigkeit in der Stärke der Schaumbildung bei den verschiedenen Verdünnungs-

graden beobachten können. Bei den Blutserumlösungen hört die Schaumbildung bei Verdünnungen von etwa 1 : 4000 auf, bei den Fleischlösungen läßt sich dagegen eine Grenze infolge ihres verschiedenen Fettgehaltes nicht festlegen. Sie muß aber jedenfalls viel niedriger gesetzt werden und wird selbst bei magerem Fleische kaum 1 : 1000 erreichen.

Nach dem positiven Ausfall des Orientierungsversuches muß ein klares Filtrat hergestellt werden. Bei magerem und frischem Fleische gelingt es meist bereits nach zweimaligem Filtrieren durch gehärtete, vorher mit 0,85 %iger Kochsalzlösung angefeuchtete Papierfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 575, 603 und 605) eine klare Lösung zu bekommen. Bei fettem, gepökeltem, geräuchertem und faulendem Fleische kommt man auf diese Weise meist nicht zum Ziel. Recht gute Resultate gibt in solchen Fällen die Filtration mit ausgeglühter Kieselgur (Fig. 18). Man verfährt zweckmäßig in folgender Weise:

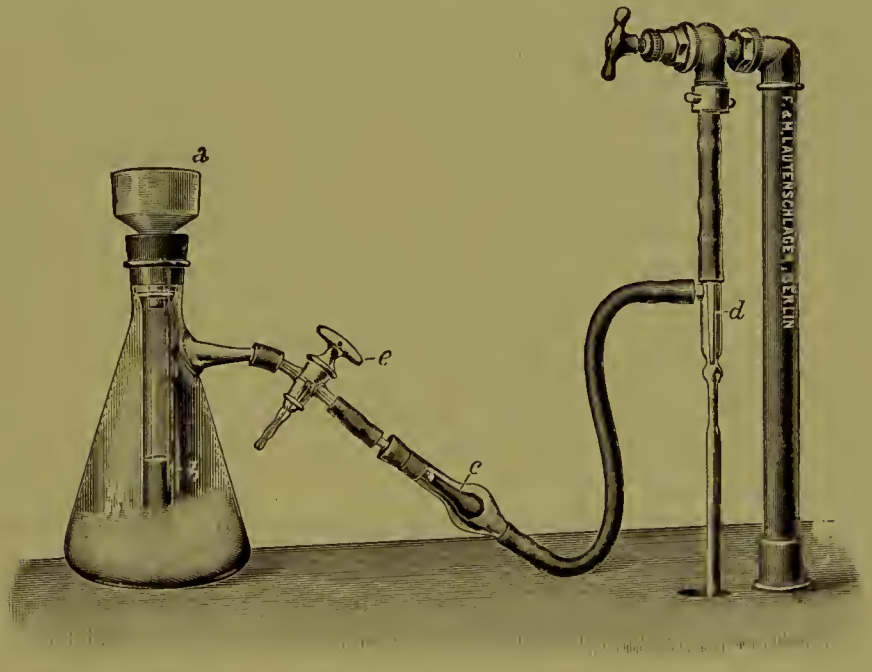


Fig. 18. Filtration mittels Kieselgur (BÜCHNERscher Trichter).

Die ausgeglühte Kieselgur wird mit steriler 0,85 %iger Kochsalzlösung zu einem dünnen Brei verrührt. Dieser wird gleichmäßig auf die Filterplatte eines BÜCHNERschen Trichters (*a*), der mit der Saugflasche (*b*) mittels eines Gummistopfens in Verbindung steht, gegossen; um das Hindurchfließen der Filtermasse zu verhüten, ist die durchlochte Platte mit einer runden Fließpapierplatte (Schleicher & Schüll) sorgfältigst bedeckt. Mittels der unten näher beschriebenen Saugvorrichtung wird aus dem Brei die Kochsalzlösung abgesaugt und es bleibt die Kieselgur, die in gleichmäßig dicker etwa 1—2 mm starker Schicht den Boden bedecken soll, zurück. Bei einem Durchmesser des BÜCHNERschen Trichters von 4,4 cm erhält man durch Aufgießen von 10 ccm einer 4 %igen Kieselguraufschwemmung eine nach unseren Erfahrungen zweckmäßige etwa 2 mm dicke Filterschicht. Vor der Filtration der Untersuchungsflüssigkeit muß erst durch Aufgießen von Kochsalzlösung die Filtrationsfähigkeit des Filters geprüft werden. Um zu vermeiden, daß beim Aufgießen auf die Filtermasse in derselben Löcher entstehen, empfiehlt es sich, den BÜCHNERschen Trichter schräg zu halten und an der Wandung desselben die Flüssigkeit herunterfließen zu lassen. Man kann auch

zweckmäßig in der Weise verfahren, daß man auch die obere Schicht der Filtermasse mit einer runden Fließpapierplatte bedeckt. Ein solches Filter ist brauchbar, wenn die Kochsalzlösung vollkommen klar filtriert wird. Bei dieser Filtration hat man daran zu denken, daß Kieselgur, in zu dicker Schicht benutzt, einen erheblichen Teil der Eiweißkörper zurückzuhalten vermag; man wählt daher eine möglichst dünne Schicht der filtrierenden Kieselgur.

Nötel empfiehlt zur Herstellung klarer Lösungen die Filtration mit gereinigtem Glasstaub von $^1/_4$ mm Korngröße; dieser wird auf ein feuchtes Filter ausgeschüttet, dann mit der Untersuchungsflüssigkeit angefeuchtet und diese durchfiltriert. Nach seinen Angaben soll hierbei die Einbuße an Eiweißkörpern viel geringer sein wie bei der Kieselgurfiltration.

Sehr gut eignen sich auch die allerdings teureren Berkefeldschen Kieselgurkerzen. Vorbedingung für die Filtration ist selbstverständlich, daß die zur Verwendung kommende Kerze vor dem Gebrauch sterilisiert ist. Würde man beispielsweise eine nicht sterilisierte Kerze benutzen, durch die vorher eine Pferdefleischeiweißlösung filtriert wäre, so würde die nachfolgende Filtration einer auf Pferdefleisch verdächtigen Rindfleischlösung zur Folge haben können, daß auf Grund der event. auf Zusatz von Pferdeantiserum entstehenden Trübung fälschlich die Diagnose auf Pferdefleisch gestellt würde.

Ein in der angegebenen Weise hergestelltes klares Filtrat ist aber für die Reaktion in der Regel noch nicht verwendbar, denn es ist meist noch viel zu konzentriert. Für das biologische Verfahren zum Nachweis von Pferdefleich bedienen wir uns, wie gesagt, einer Lösung von etwa 1 Teil Fleischeiweiß in 300 Teilen Kochsalzlösung.

Da die zur Orientierung über die Konzentration der Fleischlösung dienende Schaumprobe gewöhnlich ein Zeichen ist, daß die Lösung konzentrierter ist als verlangt wird, so wird man fast immer, selbst wenn der Eiweißgehalt durch die Kieselgurfiltration etwas verringert wurde, noch Kochsalzlösung zur Verdünnung zusetzen müssen. Die geforderte Verdünnung der Fleischlösung von 1:300 läßt sich ebenfalls empirisch durch die Salpetersäurekochprobe bestimmen. Zu diesem Zwecke wird ein kleines Quantum (1 ccm) des klaren Filtrates in einem kleinen Reagenzgläschen gekocht und mit einem Tropfen der offizinellen Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,153 versetzt. Gewöhnlich tritt dann eine starke Trübung auf, die sich sofort als flockiger Niederschlag auf den Boden des Röhrchens senkt. Diese Reaktion ist ein Zeichen, daß die Lösung noch zu stark ist, und daß das Filtrat weiter verdünnt werden muß. Erst wenn man bei weiterer Prüfung nach entsprechender Verdünnung mit 0,85 %iger Kochsalzlösung eine gleichmäßig opaleszierende Trübung bekommen hat, die sich nach etwa 5 Minuten langem Stehen als eben erkennbarer flockiger Niederschag zu Boden senkt, hat man den für die Reaktion vorgeschriebenen Konzentrationsgrad erreicht. Ungeübten kann es wohl passieren, daß sie bei der Herstellung der Verdünnungen den geforderten Verdünnungsgrad von 1:300 überschreiten; es tritt dann bei der Salpetersäurekochprobe ein Eiweißniederschlag nicht mehr auf. Soll nun aber trotzdem die Lösung verwandt werden, so muß das natürlich bei der Beurteilung des Befundes wohl berücksichtigt werden. Im allgemeinen wird man sich aber zweckmäßig an den von uns vorgeschlagenen Verdünnungsgrad halten.

Vor dem Ansetzen des Versuches ist die Untersuchungslösung noch auf ihre Reaktion zu prüfen; sie soll am besten neutral, allenfalls schwach sauer oder schwach alkalisch reagieren. Bei der vorgeschriebenen Verdünnung der

Fleischeiweißlösung wird die Reaktion meistens die richtige sein, doch ist es notwendig, sich jedesmal davon zu überzeugen. Stark saure Lösungen, meist durch Fleischmilchsäure bedingt, können zu Trugschlüssen Veranlassung geben, denn infolge der Koagulationswirkung der Säure auf das Serumeiweiß wird in solchen stark sauren Fleischlösungen nach Zusatz eines beliebigen Serums eine der spezifischen Reaktion täuschend ähnliche Trübung oder auch Fällung eintreten können. Um diese Fehlerquellen zu vermeiden, ist es durchaus geboten, jeden zu untersuchenden Fleischauszug auf seine Reaktion mit Lackmuspapier genau zu prüfen und ihn nötigenfalls bis zur neutralen, allenfalls schwachalkalischen Reaktion mit verdünnter Sodalösung (0,1 %) zu versetzen. Andererseits ist aber ein Überschuß von Alkali (Soda, Borax usw.) streng zu vermeiden, da hierdurch die biologische Reaktion ganz erheblich abgeschwächt wird, eine Tatsache, die mit der Beobachtung übereinstimmt, daß die Präzipitine sich in Alkalien auflösen. W. A. Schmidt benutzt als Neutralisationsmittel der Untersuchungslösung Magnesiumoxyd, weil seine Schwerlöslichkeit es von vornherein ausschließt, daß die Versuchslösung zu alkalisch wird, was bei sorgloser Anwendung löslicher Alkalien leicht eintreten kann.

Die als Kontrollösungen in Frage kommenden Pferde-, Schweine- und Rindfleischextrakte sind genau wie die Untersuchungsflüssigkeiten herzustellen und müssen denselben Konzentrationsgrad haben. Benutzt man ausnahmsweise zur Kontrolle angetrocknetes Blut oder Serum, so ist hiervon in der bekannten Weise eine Verdünnung von 1:1000 herzustellen. Ehe man die Reaktion ansetzt, ist es zu empfehlen, noch einmal sowohl von der Untersuchungsflüssigkeit sowie von den Kontrollflüssigkeiten die Salpetersäurekochprobe kurz hintereinander anzusetzen, um dadurch zu vergleichen, ob alle Flüssigkeiten annähernd den gleichen Konzentrationsgrad haben. Man hängt sich zu diesem Zwecke die die Stärke der Lösung anzeigenden Röhrchen zweckmäßig mit in das Reagenzglasgestell hinein. Fällt bei sämtlichen Eiweißflüssigkeiten die Salpetersäure-Kochprobe annähernd gleich aus, so muß die biologische Untersuchung sofort angeschlossen werden, da sich nach längerem Stehen die Lösungen leicht wieder trüben können.

Bei der Ausführung der Reaktion werden in das kleine Reagenzglasgestell (pag. 42, Fig. 2) möglichst gleich dicke und gleich lange Röhrchen gehängt; sie sind auf dem Holzgestell mit Nummern bezeichnet. Die Röhrchen sind vorher auf ihre Sauberkeit zu prüfen; es ist vor allem darauf zu achten, daß das Glas an dem Übergang in die Kuppe keine — im Glase sich häufig findenden — Ringe zeigt.

Die Reaktion wird dann in der Weise ausgeführt, daß man mit einer sterilen Pipette je 1 ccm der Untersuchungsflüssigkeit in Röhrchen 1 und 2 bringt. In Röhrchen 3 wird 1 ccm der notorisch sicheren Kontrollpferdefleischlösung gefüllt. Röhrchen 4 und 5 werden mit je 1 ccm der Kontroll-Schweine- und Rindfleischlösung beschickt. In Röhrchen 6 wird 1 ccm der sterilen, zur Herstellung der Lösungen benutzten Kochsalzlösung gegossen. Zum Einfüllen der verschiedenen Lösungen sind auch besondere sterilisierte Pipetten zu benutzen. Zu den, wie angegeben, beschickten Röhrchen wird mit Ausnahme von Röhrchen 2 je 0,1 ccm vollständig klares hochwertiges Pferdeantiserum zugesetzt und zwar so, daß es an der Wand des Röhrchens herabfließt und sich auf seinem Boden ansammelt. Zu Röhrchen 2 wird 0,1 ccm normales, ebenfalls völlig klares Kaninchenserum in gleicher Weise zugesetzt.

Man bedient sich zum Serumzusatz gewöhnlich einer dünnen, genau in 100 Teile geteilten Pipette von 1 ccm Inhalt oder einer kalibrierten Kapillarpipette (s. pag. 48, Fig. 7).

Die Reaktion ist bei Zimmertemperatur vorzunehmen. Die Röhrchen dürfen nicht geschüttelt werden. Es ist notwendig, zu einer Untersuchung stets nur den Inhalt eines Serumröhrchens zu nehmen, falls man nicht sicher ist, daß das Serum eines anderen Röhrchens von demselben Kaninchen stammt. Es ist nämlich nicht ausgeschlossen, daß ein Antiserum neben dem Präzipitin auch noch eine gewisse Menge des zur Vorbehandlung der Kaninchen verwandten Eiweißes enthält und daß dieses präzipitable Eiweiß, welches sich im „latenten" Zustande im Antiserum befindet, durch das Präzipitin eines anderen Kaninchens ausgefällt wird. W. A. Schmidt machte zuerst diese Beobachtung ganz zufällig, als er bei der Titerbestimmung von Menschenantiseris irrtümlich zweimal Antiserum zusetzte, das von verschiedenen Kaninchen stammte (s. u.).

Um alle Fehlerquellen auszuschließen und um den Ausfall der biologischen Reaktion als absolut beweisend bezeichnen zu können, sind fünf Kontrollen (Röhrchen 2—6) notwendig. In Röhrchen 1 findet die eigentliche Untersuchung der auf Pferdefleisch verdächtigen Fleischlösung statt.

Die Kontrolle 1 (Röhrchen 2), Zusatz von normalem Kaninchenserum zu der zu untersuchenden Fleischlösung, die absolut klar bleiben muß, hat den Zweck, nachzuweisen, daß die in Röhrchen 1 etwa beginnende Trübung nicht auf eine Wirkung von Kaninchenserumzusatz an sich zu beziehen ist.

Kontrolle 2 (Röhrchen 3), Zusatz von spezifischem Pferdeantiserum zu einer gleich stark verdünnten Pferdefleischlösung, dient zur nochmaligen Feststellung der Wirksamkeit des Antiserums.

Die Kontrolle 3 und 4 (Röhrchen 4 und 5), Zusatz von Pferdeantiserum zu einer gleich stark verdünnten Rind- und Schweinefleischlösung, in denen kein Niederschlag entstehen darf, beweisen in Ergänzung zu Kontrolle 2, daß die in dem Untersuchungsröhrchen 1 sich etwa bildende Präzipitation durch eine spezifische Wirkung des zugesetzten Serums hervorgerufen wird.

Eine der wichtigsten Kontrollen ist Kontrolle 5 (Röhrchen 6), Zusatz von Pferdeantiserum zu der zur Verdünnung der einzelnen Lösungen benutzten physiologischen Kochsalzlösung. Ihr Klarbleiben nach dem Zusatz von Pferdeantiserum beweist, daß einmal das zur Verwendung gekommene Serum vollkommen klar ist und nicht opalesziert und daß die Kochsalzlösung nicht schon an und für sich beim Zusatz des Antiserums Trübungen bildet, wie das z. B. beim Leitungswasser der Fall sein würde.

Hat man so unter sorgfältiger Vermeidung der besprochenen Fehlerquellen mit den notwendigen Kontrollen den Versuch angesetzt, so wird **die Beurteilung des Befundes** keine Schwierigkeiten bieten. Die spezifische Reaktion — die bei positivem Befund in Röhrchen 1 und 3 auftritt — beginnt fast in allen Fällen, wenn man, wie wir vorschreiben, ein Schütteln der Röhrchen vermeidet, an der Kuppe des Reagenzglases, da sich das Serum, als die spezifisch schwerere Flüssigkeit, zu Boden senkt. Ist die Unterschichtung des Serums sorgfältig erfolgt, so kann man beobachten, daß die spezifische Trübung in Form eines deutlich sichtbaren Ringes an der Berührungsstelle des Serums und der Fleischeiweißlösung entsteht; allmählich verbreitert er sich immer mehr, bis eine

gleichmäßige Trübung der ganzen Flüssigkeit aufgetreten ist. Nur in äußerst seltenen Fällen haben wir die Beobachtung gemacht, daß die Präzipitinbildung von oben anfing; es wird ein solcher Fall nur dann eintreten, wenn das spezifische Serum leichter ist als die Untersuchungsflüssigkeit. Im weiteren Verlaufe der Reaktion wird die anfangs hauchartige Trübung immer stärker, so daß man sie als wolkig bezeichnen kann. Im Verlaufe der nächsten 10—15 Minuten differenziert sich die diffuse Trübung als deutlich aus kleinsten Niederschlägen bestehend. Diese kleinsten Niederschläge, die anfänglich gleichmäßig suspendiert in der Flüssigkeit schwimmen, vergrößern sich im Verlauf der nächsten 10 Minuten zu deutlich flockigen Präzipitaten, die sich dann allmählich als Bodensatz in der Kuppe des Röhrchens absetzen. Ist bei Verdacht auf Pferdefleisch in Röhrchen 1 und 3 die Trübung in der charakteristischen Weise aufgetreten, während die übrigen Röhrchen völlig klar bleiben, so handelt es sich um Pferdefleisch (resp. Esel- oder anderes Einhuferfleisch). Die Reaktion muß nach spätestens 30 Minuten als abgeschlossen angesehen werden. Später entstehende Trübungen dürfen als positive Reaktion nicht aufgefaßt werden. Zur besseren Feststellung der zuerst eintretenden Trübung können die Röhrchen bei auffallendem Tages- oder künstlichem Lichte betrachtet werden, indem zwischen Lichtquelle und Reagenzglas eine schwarze Fläche (z. B. ein schwarzes Heft) geschoben wird.

Heterologe Trübungen, d. h. Trübungen, die beim Zusatz von spezifischen Antiseris zu konzentrierten artfremden Eiweißlösungen bisweilen zu beobachten sind und für den Unerfahrenen zu irrtümlichen Deutungen Veranlassung geben könnten, obwohl sie bezüglich der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens mit der spezifischen Trübung nicht verwechselt werden können, kommen bei quantitativem Arbeiten nach unserer Vorschrift nicht in Betracht. Von der Spezifität des zur Verwendung kommenden Antiserums hat sich der Sachverständige selbstverständlich bei jeder Untersuchung zu überzeugen (s. unten).

Wohl aber erfährt die biologische Reaktion eine gewisse Einschränkung durch die Verwandtschaftsreaktionen. Es ist nicht möglich, mit Hilfe der biologischen Reaktion Pferdefleisch von Esel-, Maulesel- usw. Fleisch zu unterscheiden. Glücklicherweise kommt die Differenzierung von Pferde- und Eselfleisch für das Fleischbeschaugesetz nicht in Frage, denn ob das unter der Flagge von Rindfleisch eingeführte Fleisch Pferde- oder Eselfleisch ist, ist für die Beurteilung gleichgültig.

Für die praktische Anwendung der biologischen Methode im Rahmen des Fleischbeschaugesetzes würde, wie bereits oben erwähnt, frisches, gefrorenes, ausgetrocknetes, geräuchertes, gepökeltes, gekochtes und event. faulendes Fleisch (falls es nicht bereits als solches beanstandet würde) zur Untersuchung kommen. Der Nachweis von Pferdefleisch bereitet im allgemeinen bei zubereitetem und faulendem Fleisch viel mehr Schwierigkeiten als bei frischem Fleisch; diese sind jedoch rein technischer Natur und beruhen auf der Herstellung eines eiweißreichen klaren Filtrats. Während man bei frischem Fleisch bereits oft schon nach einer viertelstündigen Auslaugung eine genügende Eiweißlösung gewinnen kann, die oft nach einmaligem Filtrieren durch gehärtete Papierfilter die geforderte Klarheit erhalten hat, so ist häufig bei zubereitetem und faulendem Fleisch eine Auslaugung von mehreren Stunden erforderlich und nur selten wird man durch wiederholte Filtration durch Papierfilter eine klare Lösung erhalten. Fast immer muß die Filtration mit Kieselgur vorgenommen werden.

Um nachzuweisen, ob der Grad der **Pökelung** und der **Fäulnis** des Fleisches einen nachteiligen Einfluß auf die biologische Methode ausübt, haben wir diesbezügliche Untersuchungen angestellt:

Es wurden mehrere 5 Pfd. schwere Pferdefleischstücke nach Vorschrift gepökelt. Nachdem sie 12 Tage in der Lake gelegen hatten, wurden sie in 6tägigen Intervallen 2 Monate lang biologisch untersucht. Der Kochsalzgehalt des Fleisches, der bei der ersten Untersuchung 10,5% betrug, steigerte sich nach etwa $1^1/_2$ Monaten bis auf 16%. Es entsprach das ungefähr dem Salzgehalt der Lake. Einen erheblichen störenden Einfluß der Pökelung auf die biologische Reaktion konnten wir nicht beobachten, nur daß mit dem steigenden Salzgehalt des Fleisches seine Auslaugungsfähigkeit abnahm, so daß bei der letzten Untersuchung — das Fleisch war bereits so brüchig, daß beim Abschaben selbst größere Muskelbündel direkt auseinander gerissen wurden — erst nach 5stündiger Auslaugung eine brauchbare Eiweißlösung erhalten wurde.

Zur Ermittelung, bei welcher Konzentration Kochsalz das Eintreten der Präzipitation hindern kann, wurden von Schüller die folgenden Untersuchungen angestellt:

Zu Pferdeblutserumverdünnungen 1:1000 und 1:10000 setzte er 1, 2, 3 bis 15% Kochsalz und prüfte den Einfluß des Kochsalzgehaltes auf die Präzipitation an der Hand eines Antiserums, dessen Titer 1:20000 betrug.

In der Serumverdünnung 1:1000 trat bei 0,9% Kochsalz fast augenblicklich nach dem Serumzusatz eine wolkige Trübung mit nachfolgender Flockenbildung auf. Bis zu einem Kochsalzgehalt von 3% war ein Unterschied in der Stärke der Trübung nicht wahrzunehmen. Dann aber nahm sie mit zunehmendem Kochsalzgehalt allmählich ab. Doch auch noch bei 15% Kochsalz war die Reaktion deutlich positiv. Dagegen blieb die Trübung in der Serumverdünnung 1:10000 schon bei einem Kochsalzgehalt von 4% vollständig aus.

Bei der Untersuchung ganzer Fleischstücke, bei denen man mit bekanntem Eiweißgehalt arbeitet, ist daher auf Grund dieser Untersuchungen eine Entfernung des Kochsalzes nicht unbedingt erforderlich. Trotzdem halten wir sie für sehr wünschenswert. In den Fällen, in denen es darauf ankommt, das Eiweiß einer bestimmten Tierart in einem Gemenge von verschiedenen Eiweißarten festzustellen, ist es nach Schüller zweckmäßig, den Kochsalzgehalt mindestens auf 2—3% herabzusetzen. Dies ist nach ihm z. B. notwendig, bei der Untersuchung von Würsten, die zur Hauptsache aus Rind- und Schweinefleisch hergestellt sind und nur einen kleinen Zusatz von Pferdefleisch erhalten haben.

Untersuchungen an **faulendem Pferdefleisch** ergaben, daß mit zunehmender Fäulnis die Auslaugungsfähigkeit ebenfalls abnahm. Bei stark gefaultem Fleische war eine 2tägige Auslaugung nötig, um die biologische Reaktion anstellen zu können.

Bei **geräuchertem Fleische** ergab die Prüfung mit der biologischen Methode dieselben Resultate, wie bei gepökeltem Fleisch.

Wie bereits hervorgehoben, ist die biologische Methode bei **gekochtem Fleische** nicht anwendbar, sobald die reaktionsfähigen Eiweißkörper durch den Kochprozeß vollkommen zerstört sind. Das ist nun aber glücklicherweise nicht immer der Fall. Die Temperaturen, die im Innern des Fleisches beim Kochen, Braten, Schmoren usw. erreicht werden, sind recht verschieden, je nach der Beschaffenheit und Zusammensetzung des Materials und der Dauer des Erhitzens.

Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß selbst Bakterien, z. B. die Erreger der Fleischvergiftungen (Paratyphus B) im Fleische beim Kochen nicht immer abgetötet werden.

Werden z. B. im Innern des Fleisches 60—70° C nicht überschritten, wie das sehr häufig der Fall ist, so ist die biologische Methode noch anwendbar, denn bei dieser Temperatur werden die Eiweißkörper noch nicht unlöslich. So haben wir bei Roastbeef, Beefsteak usw. immer noch gute Reaktionen erzielt. Auch v. Riegler will mit gekochtem und gebratenem Fleische spezifische Reaktionen erhalten haben.

Wir haben zusammen mit Borchmann Versuche mit erhitzten Würsten (s. unten) angestellt. Es wurden Pferdemettwürste untersucht, die 1 bis 2 Stunden bei 70—90° C über offenem Feuer und darauf 6 bzw. 15 Minuten lang in siedendem Wasser gebrüht waren. Es gelang noch mit den 6 Minuten lang gebrühten Würsten die Präzipitinreaktion zu erhalten. W. A. Schmidt erhielt noch recht brauchbare Reaktionen mit über freiem Feuer auf dem Rost gut durchgebratenem Beefsteak sowie mit Kalbsbraten, welcher im Innern keine rötliche Farbe mehr zeigte, also ebenfalls gut durchgebraten war, namentlich bei Anwendung seines Muskeleiweißantiserums. Versuche mit Suppenfleisch gaben dagegen ein negatives Resultat. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Fiehe, Baier und Reuchlin u. a.

Es ist daher auch bei gekochtem Fleisch die biologische Reaktion in jedem Falle zu versuchen.

Das um so mehr, als W. A. Schmidt durch sehr interessante ad hoc angestellte Versuche neuerdings nachgewiesen hat, daß erhitztes Eiweiß seine Präzipitierbarkeit bei höherer Temperatur behält, als man nach den bisherigen Versuchen angenommen hat.

Wir erwähnten schon die Beobachtung von Graham-Smith, daß Blutserum bei 3 Minuten langem Erhitzen auf 64° seine Reaktionsfähigkeit völlig eingebüßt hatte. Schmidt wies nach, daß gewöhnliches Präzipitinserum — erhalten durch Einspritzung von nativem Muskelpreßsaft — noch stark auf Muskeleiweiß, das auf 70° C erhitzt war, reagierte. Seine weiteren Versuche wurden mit Blutserum angestellt, welches a) mit dem gleichen, b) mit dem 9fachen Volumen NaCl-Lösung verdünnt, erhitzt wurde. Die Erhitzungsdauer betrug 30 resp. 60 Minuten; erhitzt wurde auf 70, 75, 80, 85, 90 und 100° C. (Das Erhitzen bei 100° C ist so zu verstehen, daß das Serum der Temperatur des kochenden Wassers ausgesetzt wurde. Das Serum erreichte daher nicht ganz 100° C.)

Er stellte fest, daß das in Verdünnung 1:1 30 Minuten lang bei 70° erhitzte Serum dieselbe Präzipitatmenge lieferte wie das unerhitzte. Eine wahrnehmbare Verminderung der Fällbarkeit hatte also nicht stattgefunden. Bei Erhitzung von 1:10 verdünntem Serum war die Reaktion aber merklich beeinflußt, denn das Präzipitat war um 30% geringer.

Durch stärkeres Erhitzen nahm die Reaktionsfähigkeit graduell ab. Außerdem war der Verlauf der Reaktionen beim erhitzten Serum bedeutend langsamer als beim unerhitzten. Das trat in dem 1:10 verdünnten Serum besonders hervor.

Interessant war die Tatsache, daß Serum selbst nach 1stündigem Erhitzen bei 90° seine biologischen Eigenschaften noch in genügendem Maße beibehielt, so daß eine Differenzierung mittels eines gewöhnlichen Präzipitinserums noch möglich war. Schmidt konnte von so erhitzten Menschen-, Rinder-, Schaf- und Pferdeseris die letzteren noch einwand-

frei herausfinden. Das auf 100° erhitzte Serum wurde nach Zusatz von Nativpräzipitinserum nicht mehr gefällt. Der Autor studierte dann weiterhin von praktischen Gesichtspunkten aus die Frage, ob durch Vorbehandlung von Kaninchen mit erhitztem Blutserum (½ Stunde auf 70° C) Präzipitine erzeugt werden können, welche mit erhitztem Eiweiß kräftiger reagieren wie das NativPräzipitin. Von Obermeyer und Pick waren derartige Versuche schon kurz beschrieben. Auch Fornet hat später diese Frage studiert. Schmidt stellte nun fest, daß das 70°ige Präzipitin nicht allein das bei 70—80° erhitzte und native, sondern ebenfalls das bei 100° erhitzte Serum zu fällen imstande ist (siehe auch Obermeyer und Pick). Am stärksten reagierte das Präzipitin mit dem 70—80° erhitzten Serum. Bei den Reaktionen mit (nativem und) dem bei 70° erhitzten Serum behält das an sich ziemlich hochwertige Nativpräzipitin noch die Oberhand, bei dem höher erhitzten Serum zeigt sich aber die eminente Überlegenheit und Bedeutung des 70°igen Präzipitins: Dieses setzt mit seiner Reaktionsfähigkeit gerade da hilfreich ein, wo das Nativpräzipitin schon zu versagen beginnt. Denn während letzteres mit dem bei 80° und 90° erhitzten Serum wenn auch noch deutlich aber schwach und namentlich nur langsam zu reagieren vermag, ist das 70°ige Präzipitin fähig, mit dem 80°igen, ja sogar mit dem 1 Stunde lang bei 100° C erhitzten Serum kräftige Reaktionen auszulösen (W. A. Schmidt).

Es ist das ein Beweis dafür, daß das durch Hitze veränderte Eiweiß Antikörper erzeugt hat, welche diesem erhitzten Eiweiß in ähnlicher Weise entsprechen, wie Nativ-Präzipitin dem nativen Eiweiß. Artfremdes natives und erhitztes Serum wurde, wie die vielen Kontrollen ergaben, durch das 70° Präzipitin nicht verändert, die Reaktionen sind somit — ebenso wie die des Nativ-Präzipitins — spezifisch.

Auch mit bei 70° erhitztem und durch NaOH alkalisiertem Serum wurden Kaninchen immunisiert. Eine Überlegenheit dieses „Alkali"-Präzipitins hat sich aber nicht herausgestellt, das mit nicht alkalisiertem Serum erzeugte Präzipitin erwies sich im großen und ganzen als das reaktionsfähigere.

Auch bei Reaktionen mit Serum, welches durch Erhitzen mit Soda eine stärkere Denaturierung erlitten hat als durch einfaches Erhitzen, erwies sich das „Alkali"-Präzipitin nicht wirksamer als das mit nicht alkalisiertem Serum erzeugte 70°ige Präzipitin. Diese Versuche hat dann Schmidt für die Praxis zu verwerten gesucht.

Wenn er nun auch zeigen konnte, daß er mit einem Nativ-Präzipitinserum noch Serum differenzieren konnte, welches trocken eine Stunde lang auf 130° C und in Lösung eine Stunde lang bei 90° C erhitzt worden ist und ferner, daß es namentlich mit Hilfe eines 70°igen Präzipitinserums gelingt. erhitztes Eiweiß, ja selbst eine Stunde lang bei 100° C erhitztes, zu differenzieren, so war er sich doch darüber klar, daß das Laboratoriumsversuche waren, die den Verhältnissen der Praxis noch nicht ganz entsprechen. Wenn durch Erhitzen das Eiweiß völlig unlöslich geworden ist, so ist selbst mit einem 70°igen Präzipitinserum noch nichts auszurichten.

W. A. Schmidt legte sich daher die Frage vor, ob das koagulierte Eiweiß nicht durch Anwendung von Chemikalien in Lösung zu bringen und dann in der entstehenden Lösung zu differenzieren sei. Das beste Lösungsmittel schien ihm warme verdünnte Natronlauge zu sein; aber durch diese wird das Eiweiß völlig denaturiert, so daß es

selbst mit dem 70° Präzipitin seine Reaktionsfähigkeit völlig einbüßt. Er versuchte daher durch Vorbehandlung von Kaninchen mit $^1/_2$ Stunde lang bei 70° C und darauf mit verdünnter NaOH 15 Minuten länger (bei 70° C) erhitztem und infolgedessen vollständig inaktiviertem Serum Präzipitine zu erzeugen. Er erzielte so ein Serum, welches auf natives Serum nur sehr schwach, sehr stark auf 70° und auch auf 100° C erhitztes Serum reagierte. Vor allem aber reagierte es mit durch NaOH erhitztem und inaktiviertem Serum.

Verdünntes Pferdeserum wurde im kochenden Wasserbade etwa 2 Stunden lang erhitzt, das flüssig gebliebene wurde abgegossen, das Koagulum gründlich mit NaCl-Lösung ausgewaschen und das nun völlig unlösliche Koagulum getrocknet. Dieses wurde pulverisiert, $^1/_2$—1 g davon im Reagenzglase mit 10 ccm NaCl-Lösung + $^1/_{10}$ normal. NaOH übergossen und 15 Minuten im Wasserbade bei 60—70° erwärmt. Hierbei löste sich genügend Eiweiß. Filtriert und mit verdünnter HCl neutralisiert, reagierte das gelöste Eiweiß mit dem Präzipitinserum recht gut, selbst in ziemlicher Verdünnung.

Schmidt glaubt, daß man mit Hilfe dieses Serums imstande sein wird, auch die durch die Unlöslichkeit des erhitzten Eiweißes bedingte Schwierigkeit zu überwinden.

Entsprechende Versuche mit Muskeleiweiß liegen bisher nicht vor. Auch sind nähere Angaben über diese wichtigen Versuche noch nicht publiziert. Wir selbst konnten mit einem von Schmidt uns gütigst überlassenen Antiserum seine Angaben bestätigen. Jedenfalls scheint der hier beschriebene Weg, wenn er auch umständlich ist, doch aussichtsreich zu sein.

Zunächst wird aber daran festzuhalten sein, gekochtes Fleisch mit Hilfe der gewöhnlichen Präzipitinreaktion zu untersuchen.

Es ist in allen diesen Fällen die Auslaugung des zu untersuchenden Fleisches 24 Stunden und länger fortzusetzen, um die nötige Eiweißlösung zu erhalten. Auch ist zu beachten, daß selbst bei der vorgeschriebenen Konzentration der Lösung die spezifische Reaktion später auftritt wie bei frischem, gepökeltem und leicht geräuchertem Fleisch. So konnten wir beginnende Trübungen oft erst nach 10—20 Minuten beobachten.

Es kann in solchen Fällen auch die Komplementbindungsmethode (Wassermann und Schütze) und auch die Anaphylaxiereaktion (Uhlenhuth und Haendel) mit Vorteil herangezogen werden (s. unten).

Auch bei **Fettgewebe** ist die biologische Reaktion, falls das Fett nicht durch Hitze ausgeschmolzen ist, nicht aussichtslos; in der Regel gelingt es, die genügende Menge reaktionsfähiges Eiweiß aus dem Fettgewebe (fetthaltige Organe, Knochenmark) zu extrahieren (Uhlenhuth, Beumer, Weidanz). Wir haben Fettgewebe nach Extraktion des Fettes mit Benzin oder Äther mit Hilfe des biologischen Verfahrens leicht differenzieren können. Hüne, der die Methode zum Eiweißnachweis in Fettgewebe und ausgelassenem Fett (Schmalz) weiter ausgearbeitet hat, gibt folgende Vorschrift:

„Zerschaben des Fettgewebes und Entfernen des Fettes durch wiederholtes Zusetzen von auf 37° C angewärmtem Benzin; Umrühren und vorsichtiges Abgießen der Flüssigkeit vom Bodensatz. Wiederholtes Verreiben des Rückstandes in einem auf 35—40° C angewärmten Mörser und Ausziehen mit Benzin, bis das abgegossene Benzin auf Papier keinen

Fleck hinterläßt und der Rückstand eine reine Fleischfarbe (beim Pferdefleisch dunkelbraun, beim Schweinefleisch rosa usw.) annimmt. Trocknen des Rückstandes im Brutschrank (bei 37° C). Die Masse muß vollständig trocken und faserig-bröcklig sein. Die weitere Benutzung des so vorbereiteten Zellgewebes durch Ausziehen mit Wasser (destilliertes Wasser hat sich besser bewährt als Kochsalzlösung) geschieht in der in den Uhlenhuthschen Veröffentlichungen angegebenen Weise."

Um im Fettgewebe Eiweiß nachzuweisen braucht man selbstverständlich mehr Material wie von eiweißreicheren Substanzen, z. B. Fleisch, Blut usw.

Nach König*) enthält das Fettgewebe des Netzes von allen zum Vergleich herangezogenen tierischen Organen am wenigsten Membransubstanz z. B. im Durchschnitt beim Hammel 0,83 %, beim Ochsen 0,31 % beim Schwein 0,99 %.

Danach mußte man annehmen, daß zum biologischen Eiweißnachweis im genannten Fettgewebe von diesem große Mengen notwendig seien. Das ist jedoch nicht der Fall, wie ein Versuch von Hüne zeigte:

Je 100 g Netzfettgewebe vom Schwein und Pferd werden in der oben angegebenen Weise vom Fett befreit. Es bleiben 0,5 g bzw. 0,92 g Rückstand. Hiervon ergeben je 0,1 g, 24 Stunden bei 37° mit Wasser (dest. Wasser) ausgezogen, mehr als 10,0 ccm einer 0,1 bis 0,3 %igen Eiweißlösung, wie sie zur Präzipitinmethode gebraucht wird. Man würde also von dem gesamten aus 100 g Fettgewebe erhaltenen Rückstand beim Schwein etwa 50 ccm, beim Pferd etwa 90 ccm Eiweißlösung gewinnen.

Zur Ausführung des biologischen Verfahrens kann man mit 0,5 ccm Flüssigkeit in jedem Röhrchen auskommen. Man braucht einschließlich der Eiweißgehaltbestimmung etwa 8 Röhrchen, d. h. 4 g. Demnach reicht der wässerige Auszug aus dem Rückstand des Schweinefettgewebes (50 ccm) mindestens für 12, des Pferdefettgewebes (90 ccm) mindestens für 25 Untersuchungen und man hat also zu einer Untersuchung des zell-(eiweiß)-ärmsten Netzstoffgewebes beim Schwein etwa 8 g, beim Pferd nur etwa 4 g nötig.

Von membranreicherem Fettgewebe bleibt bedeutend mehr Rückstand bei der Behandlung mit Benzin, z. B. erhält man von Bauchspeck beim Pferd 5,33 %, beim Schwein im Mittel 4,27 %, beim Rind 5.83 %.

Auch Fiehe hat Versuche angestellt, um Fettgewebe mittels der Präzipitinreaktion zu erkennen und zu unterscheiden. Folgendes Verfahren lieferte ihm zuverlässige Ergebnisse:

„Das Fettgewebe wurde gut zerkleinert und mit ziemlich viel Chloroform übergossen (auf 2 g Substanz 0,5 ccm Chloroform). Darauf wurde das Gemisch mit physiologischer Kochsalzlösung wiederholt kräftig durchgeschüttelt und nach 15 Minuten abfiltriert. Durch mehrfaches Wechseln der gehärteten Doppelfilter wurden klare Filtrate erzielt. Der Nachweis der in Lösung gegangenen Eiweißstoffe gestaltete sich nun in der gleichen Weise, wie bei den Fleischuntersuchungen. Es ist erforderlich, nicht zu wenig Fettgewebe anzuwenden, da immerhin verhältnismäßig wenig Eiweißsubstanzen darin enthalten sind. Etwa 2—3 g Gewebe auf 10—15 ccm physiologische Kochsalzlösung genügen aber zur Ausführung der Reaktion. Die blutigen Bestandteile wurden vorher sorgfältig entfernt, weil nur die

*) König, Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. Berlin 1889. Julius Springer.

Gewebebestandteile zum Nachweis Verwendung finden sollten. Fettgewebe vom Rind wurde auf diese Weise sowohl für sich, wie auch im Gemisch mit Pferdefett sicher erkannt. Zum Nachweis diente Kalbsantiserum. Ebenso wurde Pferdefettgewebe einwandsfrei nachgewiesen.

Nach Angabe von Hüne enthalten von den käuflichen Fettsorten (Schmalz) die rein weißen, welche nur unter geringer Erwärmung ausgelassen sind, meist hinreichende Mengen von Zellstoffen, so daß sie sich für den biologischen Eiweißnachweis eignen; nur muß man etwa 50 g Material mit Benzin oder Äther behandeln. Die ersten Auszüge bleiben zweckmäßig unter wiederholtem Umschütteln oder Umrühren 24 Stunden bei 37° C stehen. Wegen der Leichtigkeit der feinen Zellreste ist ein vorsichtiges Abgießen des Benzins (unter Umständen nach längerem Zentrifugieren) und ein besonders sorgfältiges Entfernen des Fettes nötig. Zum Ausziehen des Eiweißes darf nur die allernotwendigste Wassermenge benutzt werden. Die im Handel vorkommenden gelben Schmalzsorten sind stets unter starkem Erhitzen gewonnen, sodaß die reaktionsfähigen Eiweißsubstanzen stark geschädigt sind (siehe unten Anaphylaxiereaktion).

Es sei noch erwähnt, daß unter das Verbot der Einfuhr von zubereitetem Pferdefleisch auch die Einfuhr von **Pferdedärmen** und angetrocknetem Pferdeblut fällt. Auch in diesen Fällen läßt sich das biologische Verfahren, wie die Untersuchungen von Uhlenhuth und Weidanz, Borchmann und Müller beweisen, ausgezeichnet verwenden.

Die biologische Untersuchung der Därme wird in folgender Weise ausgeführt:

Zunächst werden die Därme gründlich in fließendem Wasser gewaschen, darauf wird ein Stück von etwa 30 g abgeschnitten; handelt es sich um einen gesalzenen Darm, so wird er in einem größeren, sterilisierten Erlenmeyerschen Kolben wiederholt etwa 10 Minuten lang mit sterilem destillierten Wasser übergossen. Bei frischen Därmen muß nach gründlichem Waschen die Schleimhaut entfernt werden. Das so behandelte Darmstück wird dann mit einer sterilen Schere fein zerkleinert und mit der doppelten Menge physiolog. Kochsalzlösung übergossen und bleibt zur Ausziehung der in ihm vorhandenen Eiweißsubstanzen etwa 3 Stunden bei Zimmertemperatur oder über Nacht im Eisschrank stehen. Ist der Darm sehr fett, so empfiehlt es sich, das Fett vorher durch die bekannten Fettextraktionsmittel auszuziehen. Die Klärung des Extraktes, die Bestimmung seines Konzentrationsgrades und die Ausführung der biologischen Reaktion entspricht genau dem, was wir oben über die biologische Fleischdifferenzierung gesagt haben.

Es sei schließlich noch darauf hingewiesen, daß das biologische Verfahren auch zur Kontrolle des Fischfleisches (Kaviar usw.) herangezogen werden kann (Uhlenhuth, Einecker).

Noch wichtiger wie für die Fleischbeschau ist die biologische Methode für die

Nahrungsmittelprüfung,

wenn es sich z. B. um Untersuchung von Fleischgemischen (Wurst, Hackfleisch usw.) handelt, denn hier ist sie die einzige Methode, die Aussicht auf Erfolg verspricht; die chemischen Methoden lassen uns hier in der Regel vollständig im Stich, da es sich um Gemische verschiedener Fleischsorten (Fette) handelt.

In richtiger Würdigung dieser Tatsache ist durch eine Ministerialverfügung in Preußen vom 13. Okt. 1908 darauf hingewiesen worden, daß der biologische Pferdefleischnachweis beim Verdacht von Wurstverfälschung mit Pferdefleisch auch im Inland zu erfolgen hat. Eine ähnliche Verfügung ist in Württemberg erlassen worden. (Verfügungen s. unten.)

Für den Sachverständigen ist es wichtig zu wissen, welche Fleischsorten gewöhnlich zur Verfälschung verwandt und in welcher Form sie in den Handel gebracht werden.

Fast in allen Fällen wird es sich auch hier wieder um den Nachweis von **Pferdefleisch** handeln und nur gelegentlich wird auch einmal Hunde-, Katzen-, Hirsch-, Reh-, Renntier-, Fischfleisch usw. in Frage kommen. Neuerdings wird auch über Zusatz von Kaninchen-, Kamel- (Ägypten), Walfisch- und Delphinfleisch zur Wurst usw. berichtet. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhyg., Januar 1909, pag. 154.) Die Fleischarten werden, um die Erkennung von Verfälschungen zu verhindern, gewöhnlich mit anderen Fleischsorten gemischt und zu Wurst verarbeitet oder auch als Hackfleisch verkauft. Soll der Nachweis dieser zuletzt genannten fraglichen Fleischsorten (außer Pferdefleisch) erbracht werden, so müssen die betreffenden Antisera natürlich bereit sein. Die Untersuchung würde genau in derselben Weise vor sich gehen, wie sie im folgenden für den Nachweis von Pferdefleisch beschrieben wird.

Für den Untersuchenden ist es nun von gewissem Interesse zu wissen, welche Wurstsorten und sonstigen Fleischwaren nach ihrer makroskopischen Beschaffenheit am meisten der Verfälschung mit Pferdefleisch verdächtig sind.

Nach Borchmann kommen hierfür folgende Merkmale in Betracht: Einmal die dunkelbraunrote oder karminrote Farbe und ferner der süßliche Geschmack. Außerdem ist die Schnittfläche der mit Pferdefleisch versetzten Würste mattglänzender, stumpfer, als bei den nur aus Rind- und Schweinefleisch hergestellten Würsten und die Bruchfläche enthält sehr viele trockene, dünne, zähe, daher beim Durchbrechen der Wurst sich langausziehende Fleischfasern. Verdächtig erscheinen auch die Würste, bei denen die Verarbeitung des verwendeten Fleisches feiner, als es sonst bei der betreffenden Wurstsorte üblich ist. Verdächtig sollen auch die Würste sein, die bei oberflächlicher Betrachtung regelrecht verarbeitet erscheinen, bei genauerer Prüfung aber zwischen grob verarbeitetem Fleisch auffällig fein verarbeitetes Fleisch erkennen lassen, das in Gestalt von braunroten Pünktchen wahrnehmbar ist. Im allgemeinen verdächtig auf Pferdefleischzusatz ist weiterhin jede Wurst, bei der die gute Verarbeitung in keinem Verhältnis zu dem geringen Preise steht. Von den aufgezählten Merkmalen ist am wenigsten auf den braunroten Farbenton und auf den süßlichen Geschmack zu geben; denn bezüglich der Farbe sei erwähnt, daß es Pferdewürste gibt, die durch gleichzeitige Verfälschung mit fötalem und unreifem Kalbfleisch einen helleren Ton angenommen haben können, und daß andererseits Würste, zu deren Herstellung das Fleisch von Bullen oder von alten „trockenen Kühen“ verwandt wurde, gleichfalls den für Pferdefleischzusatz charakteristischen braunroten Farbenton aufweisen. Was den süßlichen, auf dem Gehalt an Glykogen oder Traubenzucker beruhenden Geschmack des Pferdefleisches betrifft, so sei bemerkt, daß z. B. in Berlin vielfach ein Zusatz von Rohrzucker zur Wurstmasse üblich ist (Ostertag).

Ist auf den makroskopischen Befund der verdächtigen Wurst, sowie auf die anderen Verdachtsmomente bezüglich der Diagnose auf Pferdefleisch kein allzugroßes Gewicht zu legen, so sind sie doch von nicht zu

unterschätzender Bedeutung. So konnten wir von 84 verschiedenen Wurstproben, bei denen der makroskopische Befund, sowie andere Verdachtsmomente für den Zusatz von Pferdefleisch sprachen, in 35 Fällen mit Hilfe der biologischen Methode den sicheren Nachweis von Pferdefleisch erbringen, während wir dagegen bei 171 Wurstproben, die wahllos ohne Rücksicht auf den makroskopischen Befund angekauft waren, nur in 10 Fällen positive Resultate erhielten.

Um bei der biologischen Wurstuntersuchung auf alle Fehlerquellen gefaßt zu sein, ist es für den Sachverständigen auch wichtig zu wissen, wie die Wurst hergestellt wird, denn es wäre z. B. wohl denkbar, daß die ihr zugefügten Gewürze den Ausfall der Reaktion irgendwie störend beeinflussen könnten.

Die deklarierte Pferdewurst des Handels wird nach Borchmann in Norddeutschland gewöhnlich in vier Sorten hergestellt:

1. Als Schlackwurst im Rinderschloßdarm. Das Wurstgut besteht aus 25 Pfd. Pferdefleisch, 10 Pfd. Schweinefett und 4 Pfd. Rindertalg. Als Gewürz dienen 100 g gemahlener und 100 g ganzer, weißer Pfeffer, 50 g Salpeter und $^1/_2$ Pfund Salz.

2. Als Salami in sogenannten Hammelkappen. Sie besteht aus 25 Pfd. Pferdefleisch, 14 Pfd. Schweinefett, 4 Pfd. Rindertalg. Die Würzung ist genau wie bei 1. unter Hinzufügung von 5 g Knoblauch.

3. Als Mettwurst in engem Rinderdarm. Das Wurstgut enthält 20 Pfd. Pferdefleisch, 14 Pfd. Rindertalg und 6 Pfd. Schweinefett. Als Gewürz kommt hinzu 1 Pfd. Salz, 50 g ganzer, weißer Pfeffer, 10 g ganzer Kümmel und etwa 5 g Knoblauch.

4. Als polnische Bratwurst in engem Schweinedarm. Sie setzt sich zusammen aus 20 Pfd. Pferdefleisch, 4 Pfd. Rindertalg, 10—12 Pfd. Schweinefett. Die Würzung ist wie bei 1, unter Hinzufügung von 10 g gemahlenem Koriander und 10 g Majoran.

Die polnische Bratwurst wird in gekochtem Zustande genossen, während die übrigen Sorten in der Regel geräuchert aber sonst roh gegessen werden.

Da die so hergestellten — aber nicht als solche deklarierten — Pferdewürste sehr leicht den Verdacht auf Pferdefleischzusatz erwecken würden, so wird in der Praxis von derartig plumpen Verfälschungen meist abgesehen. Es wird vielmehr statt des ganzen Pferdefleisches nur prozentualiter das Rindfleisch durch Pferdefleisch ersetzt. In dieser Weise werden in nicht seltenen Fällen die Dauerwürste, zuweilen auch die Brat-, Brüh- und Kochwürste mit Pferdefleisch verfälscht.

Wie aus den obigen Zahlen ersichtlich, ist die Menge von Gewürz, die bei der Herstellung der brauchbaren Untersuchungsflüssigkeit mit in Lösung übergehen kann, verhältnismäßig gering. Daß sie den Ausfall der Präzipitinreaktion durchaus nicht schädigend beeinflußt, selbst wenn man die zehnfache Gewürzmenge zusetzt, davon haben wir uns durch zahlreiche ad hoc angestellte Versuche überzeugen können.

Da die zu untersuchende Wurst bisweilen nur verhältnismäßig wenig Pferdefleisch enthält und dieses auch nicht immer gleichmäßig durchgemischt zu sein braucht, so ist es notwendig, möglichst große Mengen (etwa 50 g) zu verarbeiten.

Das aus der Mitte der Wurst zu entnehmende Material wird dabei mit einem sterilen Messer möglichst fettfrei isoliert; gröbere Fleischteilchen werden mit einer kleinen Schere so fein wie möglich zerschnitten. Bei reichlichem Fettgehalte der Wurst empfehlen Miessner und Herbst

das Fett vor Ansetzen der Testflüssigkeit erst 24 Stunden mit Äther sulfuricus oder mit Chloroform (Uhlenhuth) zu extrahieren. Die mit Äther behandelten Wurstsorten verdienen nach ihren Angaben vor den mit Chloroform extrahierten den Vorzug. Auch sollen die mit Äther behandelten Testflüssigkeiten noch nach monatelangem Stehen vollkommen klar bleiben und noch für die Reaktion geeignet sein. Wir möchten in jedem Falle raten, zunächst auf den Zusatz von Äther oder Chloroform zu verzichten.

Die Auslaugungsfähigkeit der einzelnen Wurstsorten ist ganz verschieden. Bei magerer Wurst, die durch Räuchern oder Kochen wenig gelitten hat, kann man bereits nach 20 Minuten die nötige Eiweißlösung erhalten, während andererseits gekochte Würstchen oftmals zwei Tage

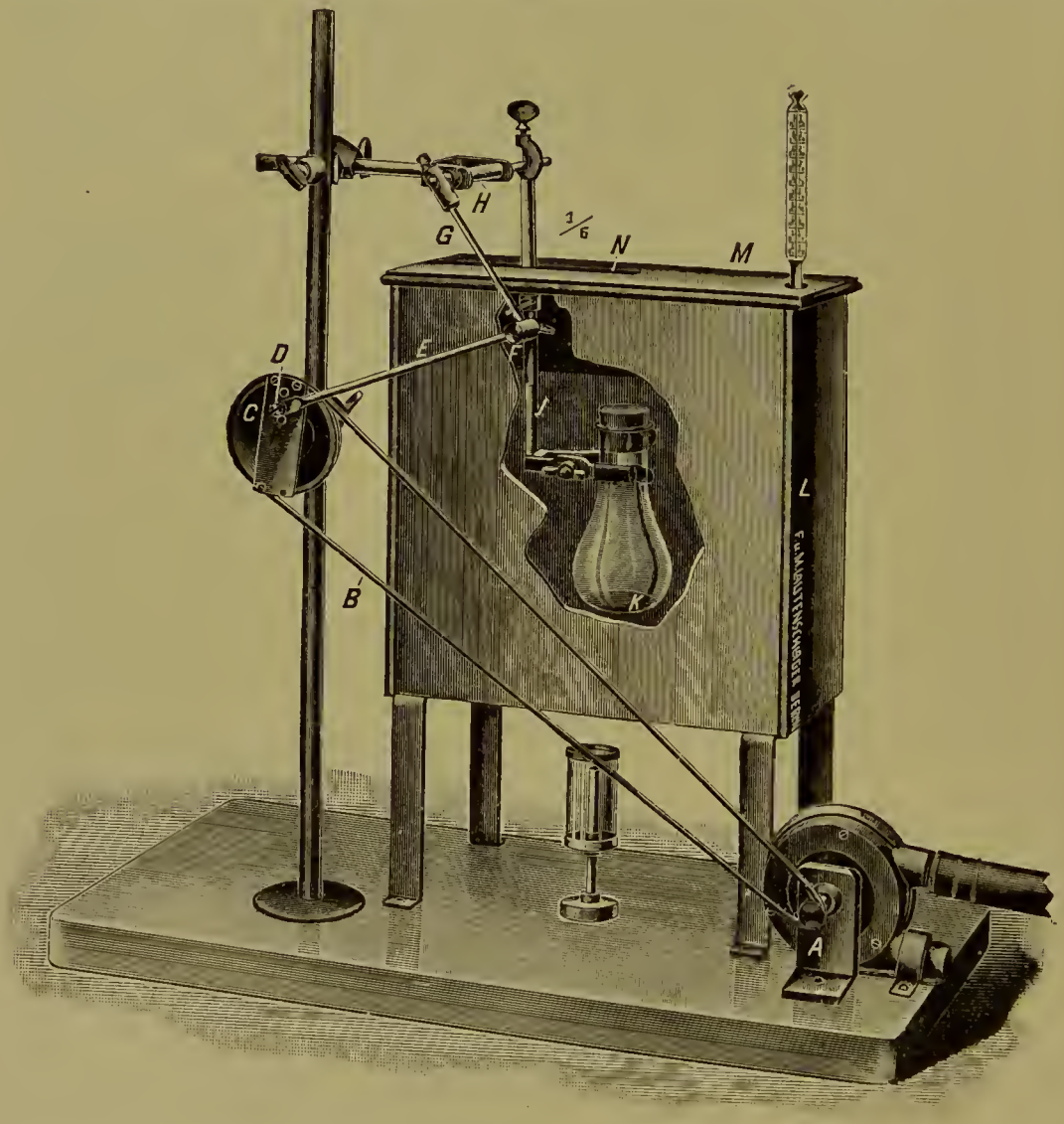


Fig. 19. Schüttelapparat*) (Kinotherm) nach Uhlenhuth, zum Schütteln bei bestimmten Temperaturen.

auslaugen müssen. In diesen Fällen, ebenso bei halbgar gebratenem Fleisch, sogenannten englischem Beefsteak (s. oben), empfiehlt es sich nach Abgießen des Auszuges die Fleischstücke durch ein mit 0,85 %iger Kochsalzlösung angefeuchtetes Koliertuch auszupressen und den so erhaltenen Preßsaft mit der vorher abgegossenen Flüssigkeit zu mischen. Um eine

*) Beschreibung siehe Zeitschr. für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie 1909, Bd. II, Heft 3.

möglichst ergiebige Auslaugung zu erzielen, verfahren wir auch in der Weise, daß wir die Wurstmasse in einem Porzellanmörser zusammen mit Glasstaub möglichst fein verreiben, sodann mit etwa dem gleichen Quantum 0,85 %iger Kochsalzlösung übergießen und zur besseren Auslaugung etwa 1 Stunde in dem Uhlenhuthschen Schüttelapparat (Fig. 19) schütteln. Der Apparat, der in einfacher Weise an jede Wasserleitung angebracht werden kann, ermöglicht es, Gemische bei verschiedenen Temperaturen zu schütteln. Ein solches Schütteln behufs besserer Auslaugung des Fleisches ist jedoch nur im Notfalle auszuführen (s. pag. 135).

Die Wurstlösungen werden darauf event. zur weiteren Auslaugung im Eisschrank aufbewahrt, sodann zentrifugiert. Die Flüssigkeit wird dann vorsichtig vom Bodensatz abgegossen. Die Herstellung eines klaren Filtrats sowie einer Verdünnung von 1:300 wird auch hier in der oben angegebenen Weise ausgeführt.

Was die **Untersuchung von gekochten Würsten** betrifft, so gilt hier dasselbe, was bereits oben für die Untersuchung von gekochtem Fleisch gesagt worden ist.

Wir haben zusammen mit Borchmann Pferdemettwurst, welche heiß geräuchert (1—2 Stunden bei 70—80° C über offenem Feuer) und darauf 6 bzw. 15 Minuten lang im siedenden Wasser gebrüht war, untersucht. Um eine möglichst ergiebige Auslaugung der in den heiß geräucherten und gebrühten Würsten etwa noch vorhandenen löslichen Eiweißstoffe zu erhalten, wurden ungefähr 30 g Wurstmasse in einem Porzellanmörser zusammen mit Glasstaub möglichst fein verrieben, mit ca. 50 ccm 0,85 %iger NaCl-Lösung übergossen, zur besseren Auslaugung 1 Stunde in den Schüttelapparat gestellt und hierauf 2 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt. Alsdann wurde das Gemisch zentrifugiert, die Flüssigkeit vorsichtig vom Bodensatz abgegossen und durch gehärtete Papierfilter (Schleicher & Schüll Nr. 575, 613 oder 605) oder durch Kieselgurfilter klar filtriert. Mit der Salpetersäurekochprobe konnten wir nunmehr in den aus der heiß geräucherten, sowie aus der heiß geräucherten und 6 Minuten lang gebrühten Wurst hergestellten Flüssigkeiten deutlich Eiweiß ausfällen. Aus der Lösung der heiß geräucherten und 15 Minuten gebrühten Wurst gelang das nicht mehr. Wir konnten sowohl in der heiß geräucherten als auch in der heiß geräucherten und 6 Min. gebrühten Wurst deutlich den Nachweis von Pferdefleisch erbringen.

Dagegen war in der heiß geräucherten und 15 Minuten gebrühten Wurst mit der Präzipitation Pferdefleisch nicht mehr nachzuweisen.

Bei Untersuchung von in Büchsen sterilisierten Frankfurter und Halberstädter Würsten versagte die Reaktion.

W. A. Schmidt hat nun systematisch untersucht, welche Temperatur im Innern von erhitzten Würsten erreicht wird.

Hierzu stellte er folgende Versuche an:

In die Mitte eines 15 cm langen (an beiden Enden offenen) Stückes Schweinewurst von (4 cm Durchmesser) wurde ein Thermometer gesteckt, das Stück Wurst wurde dann in siedendes Wasser gehängt, so daß es ganz von diesem bedeckt war. Das Wurstinnere zeigt fortan folgende Temperaturen:

Anfangstemperatur	22°	nach 10 Minuten	68°
nach 3 Minuten	28°	„ 12 „	77°
„ 4 „	34°	„ 15 „	86°
„ 6 „	46°	„ 18 „	92°
„ 8 „	58°	„ 20 „	95°

nach 25 Minuten 99—100°.

Es steigt also die Temperatur infolge des schlechten Wärmeleitungsvermögens des Fleisches nur langsam an; nach 6 Minuten langem Brühen wurden nur 46° C erreicht — bei weiterem Erhitzen steigt die Temperatur sehr schnell.

Danach sind auch unsere negativen Resultate mit den 15 Minuten lang gebrühten Würsten erklärlich. Bei einer Temperatur von 85—90° sind wir aber außerdem (nach Schmidt siehe oben) schon so ziemlich an der Grenze der Reaktionsfähigkeit des Eiweißes angelangt.

Welcher Temperatur das Wurstinnere bei dem Heißräuchern ausgesetzt ist, müßte allerdings noch durch entsprechende Versuche ermittelt werden. Im übrigen muß auf die obigen Ausführungen über den Nachweis von gekochtem Fleisch (W. A. Schmidt) hingewiesen werden.

Bei faulenden Würsten ist es angebracht, die Filtration mit bakteriendichten Filtern vorzunehmen. Außerdem dürfte es sich — wie überhaupt — empfehlen, zur weiteren Kontrolle ein Röhrchen mit reiner Wurstlösung ohne Zusatz von Serum anzusetzen, um eventuell eine spontan in der Wurstlösung auftretende Trübung, die eine positive Reaktion vortäuschen könnte, zu erkennen.

Die Hauptbedingung für die biologische Untersuchung auf Pferdefleisch in der Wurst ist ein hochwertiges Antiserum, denn man hat wohl zu berücksichtigen, daß die Eiweißverdünnung von 1:300 von den verschiedenen in der Wurst enthaltenen Eiweißstoffen herrührt und daher keine reine Pferdeeiweißlösung darstellt. Bestand z. B. die zu untersuchende Wurst aus drei Teilen Rindfleisch und einem Teil Pferdefleisch, so würde, aber auch nur unter der Voraussetzung, daß sich die beiden Eiweißstoffe gleich gut gelöst hätten, eine Eiweißlösung von 1:300 nur einer Pferdeeiweißlösung von 1:1200 entsprechen. Ein spezifisches Antiserum, das den Uhlenhuthschen Anforderungen entspricht, d. h. das noch in Verdünnungen von 1:20000 wirksam ist, wird für die Praxis in allen Fällen ausreichen, da hier ein Zusatz von Pferdefleisch unter 10% kaum vorkommt. Selbst bei 5% Pferdefleischzusatz haben wir den biologischen Nachweis ohne Schwierigkeiten erbringen können.

Für die Untersuchung der Wurst auf Pferdefleisch kommen folgende Röhrchen in Betracht:

Röhrchen I, 1,0 ccm der zu untersuchenden Wurstlösung + 0,1 ccm Pferde-Antiserum.

Röhrchen II, ebenfalls 1,0 ccm der zu untersuchenden Wurstlösung + 0,1 ccm normales Kaninchenserum.

Röhrchen III, 1,0 ccm einer notorisch sicher Pferdefleisch enthaltenden Wurstlösung + 0,1 ccm Pferde-Antiserum.

Röhrchen IV, 1,0 ccm einer kein Pferdefleisch enthaltenden Wurstlösung + 0,1 ccm Pferde-Antiserum.

Röhrchen V, 1,0 ccm physiolog. Kochsalzlösung + 0,1 ccm Pferde-Antiserum.

Röhrchen VI, 1,0 ccm der zu untersuchenden Wurstlösung ohne Serumzusatz.

Es empfiehlt sich, als Kontrollwurst eine solche zu wählen, die ungefähr 30% Pferdefleisch enthält, d. h. ebensoviel wie unter den gewöhnlichen Verhältnissen der Praxis.

Da wir nun bei der Untersuchungslösung keinen Anhalt dafür haben, wieviel Pferdefleischeiweiß darin enthalten ist, so läßt sich hier

über das Einsetzen, die Stärke und Dauer der Reaktion keine bestimmte Zeitangabe machen. Es können noch nach 10 Minuten spezifische Trübungen auftreten. Jedenfalls muß beim Vorliegen von Pferdefleisch in Röhrchen I und III eine Trübung resp. ein Niederschlag sichtbar sein, während die übrigen Röhrchen klar bleiben müssen.

In der angegebenen Weise haben wir über 250 verschiedene Würste untersucht und dabei die Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit des biologischen Verfahrens immer wieder bestätigen können. Das Verfahren, wie wir es vorschreiben, wird zurzeit auch von den Polizeitierärzten bei der Marktkontrolle offiziell angewandt.

Zum Schluß sei noch kurz die **praktische Anwendung der Komplementbindungsmethode für die Fleisch- und Wurstuntersuchung** besprochen.

Sachs und Bauer, die neuerdings vergleichende Untersuchungen mit der Präzipitinmethode und der Komplementbindungsmethode zur Differenzierung des Eiweißes in Gemischen verschiedener Eiweißarten angestellt haben, kamen zu dem Ergebnis, daß der Nachweis von Eiweißbeimengungen in Lösungen einer anderen Eiweißart mittels Präzipitation auf große Schwierigkeiten stoßen, ja, überhaupt unmöglich sein könne, daß dagegen das Komplementablenkungsverfahren auch in diesen Fällen erfolgreich zum Ziele führe. Die Autoren empfehlen auf Grund dieser Vorzüge die praktische Anwendung der Methode für die Fälle, in denen es sich für die Differenzierung von weniger konzentriertem Eiweiß in Gemischen verschiedener Eiweißarten handelt.

Es sei aber betont, daß die Autoren mit künstlich hergestellten Serummischungen gearbeitet haben, nicht aber unter den ernsten Verhältnissen der Praxis.

Unsere umfangreichen Untersuchungen haben uns gezeigt, daß bei einer Verdünnung der Untersuchungslösung von etwa 1:300 heterologe Trübungen nicht vorkommen, und daß wir mit Hilfe eines hochwertigen (Titer 1 : 20 000) spezifischen Antiserums bequem noch 5 % Pferdefleischzusatz in der Wurst nachweisen können, Mengen, die für die Praxis gar nicht mehr in Frage kommen, da bei einer Verfälschung stets mehr Pferdefleisch zugesetzt wird.

Man kommt also mit der Präzipitinreaktion in der Praxis meist zum Ziel. Immerhin kann man auch die Komplementabbindungsmethode heranziehen.

Außer den bereits oben ausführlich besprochenen Nachteilen und Schwierigkeiten der Methode kommen hier noch neue hinzu, die durch die der Wurst zugefügten Gewürze bedingt werden. Weidanz und Borchmann haben etwa 40 bei der Wurstfabrikation zur Verwendung kommende Gewürze und Konservierungsmittel mit der Komplementbindungsmethode geprüft und dabei gefunden, daß ein erheblicher Teil derselben eine Ablenkung resp. Hemmung hervorruft.

Bei der Prüfung der ablenkenden Eigenschaften verschiedener, dem Fleisch gelegentlich als Konservierungsmittel zugesetzter Chemikalien wurden die Verdünnungsgrade mit physiologischer Kochsalzlösung entsprechend den in der Praxis vorkommenden Verhältnissen gewählt. Um die Lösungen von korpuskulären Elementen zu befreien, wurden sie durch einen Papierfilter filtriert. Die dann vorgenommene Prüfung der

Reaktion mittels Lackmuspapier führte zu folgendem Ergebnis: Eine deutlich saure Reaktion zeigten die Lösungen von Benzoesäure, Borsäure, Salizylsäure, schwefelige Säure. Die Formalinlösung reagierte schwach sauer, alkalisch die Lösung von Fluornatrium und Natriumsulfit, neutral die Salpeterlösung. Um gleichzeitig zu ermitteln, ob die Alkali- oder Säurewirkung der betreffenden Lösungen gegebenenfalls die Komplemente zu schädigen oder zu zerstören imstande ist, wurden die Flüssigkeiten sowohl vor als nach der Neutralisation geprüft. Bei Benutzung der Komplementbindungsmethode kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

Tabelle 1. Komplementbindung.

Untersuchungslösungen	Reaktion mittels Lackmuspapier	Komplement (Testdosis 0,1 ccm)	Ambozeptor (Testdosis 0,001 ccm)	5%ige Hammelblutlösung	Befund
Benzoesäurelösg. 1 ccm	sauer	0,1 ccm	0,001 ccm	1 ccm	Ablenkg.
Borsäurelösung 1 ccm	„	„	„	„	kompl. Hämolyse
Salizylsäurelösg. 1 ccm	„	„	„	„	starke Hemmung
Schwefl. Säurelösg. 1 ccm	„	„	„	„	„
Formalinlösung 1 ccm	schwach sauer	„	„	„	Ablenkg.
Fluornatriumlösg. 1 ccm	alkalisch	„	„	„	„
Natriumsulfitlösg. 1 ccm	stark alkalisch	„	„	„	„
Salpeterlösung 1 ccm	neutral	„	„	„	„
0,85%ige Kochsalzlösung 1 ccm	„	„	„	„	kompl. Hämolyse

(1 Stunde in den Brutschrank bei 37° C)

Die mit neutralisierten Lösungen angestellten vergleichenden Untersuchungen führten zu denselben Ergebnissen.

Durch Erhöhung der Komplement- und Amozeptormenge ließ sich die ablenkende Wirkung nur teilweise beseitigen, lediglich durch Verdünnungen der Lösungen wurde in jedem Falle komplette Hämolyse erzielt.

Die vergleichenden Versuche mit der Präzipitin-Methode wurden in der Weise ausgeführt, daß wir zu den oben genannten klaren, nicht neutralisierten Untersuchungsflüssigkeiten soviel Pferdeserum zusetzten, daß letzteres in einer Verdünnung von 1:1000 darin enthalten war. Diese Gemische wurden dann mit der Präzipitinreaktion auf die Anwesenheit von Pferdeeiweiß geprüft. Hierbei bedienten wir uns, um die Vermischung von Antiserum mit den alkalischen oder sauren Lösungen möglichst zu vermeiden, der von Carnwath angegebenen Überschichtungsmethode (s. oben). Die Reaktion versagte nur bei der stark alkalisch reagierenden Natriumsulfitlösung.

(Siehe Tabelle pag. 155.)

Wurde der Versuch mit neutral reagierenden Lösungen angestellt, so konnte in jedem Falle deutlich eine positive Reaktion beobachtet werden.

In ganz analoger Weise wie die chemischen Fleischkonservierungsmittel haben wir die bei der Wurstfabrikation in Betracht kommenden Gewürze und sonstigen Zusätze untersucht.

Unter Benutzung derselben Extraktauszüge wurden vergleichende Untersuchungen mit der Präzipitinreaktion in der oben angegebenen Weise ausgeführt.

Die Versuchsergebnisse sind aus nachfolgenden Tabellen 7 und 8, pag. 156 und 157 zu ersehen.

Die Untersuchungen haben uns gezeigt, daß bei der praktischen Anwendung der Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdefleisch eine große Anzahl von Stoffen in Frage kommen, die die Reaktion außerordentlich störend beeinflussen, ja unmöglich machen können, wenn von einer stärkeren Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit oder von

Tabelle 2. Präzipitation (Kapillarmethode).

Gemische je 0,03, bestehend aus 1 Teil Pferdeserum und 1000 Teilen von	Reaktion mittels Lackmuspapier	Pferdeantiserumzusatz (Titer 1 : 20 000)	Befund
Benzoesäurelösung . . .	sauer	0,03 ccm	positiv
Borsäurelösung	„	„	„
Salizylsäurelösung . . .	„	„	„
Schweflige Säurelösung . .	„	„	„
Formalinlösung	schwach sauer	„	„
Fluornatriumlösung . .	alkalisch	„	„
Natriumsulfitlösung . . .	stark alkalisch	„	negativ
Natriumsulfitlösung (neutr.)	neutral	„	positiv
Salpeterlösung	„	„	schwach positiv
0.85 %ige Kochsalzlösung .	„	„	positiv

einer Verstärkung des hämolytischen Systems Abstand genommen werden muß. Durch Verstärkung des Systems oder Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit konnte in allen Fällen die ablenkende Wirkung der koktostabilen Substanzen beseitigt werden. Aus unseren Versuchen geht ferner hervor, daß die Alkali- oder Säurebildung der einzelnen Lösungen im allgemeinen zu gering war, das Komplement merklich zu schädigen.

Die so gewonnene Kenntnis der ablenkenden Substanzen haben wir für die Untersuchung von Würsten praktisch zu verwerten gesucht.

Es wurden Pferdefleischwürste vorzugsweise mit hemmenden oder ablenkenden Gewürzen und anderen gebräuchlichen Zusätzen angefertigt. Die Kontrollwürste wurden unter Weglassung dieser Substanzen aus demselben Fleisch hergestellt. Um den praktischen Verhältnissen möglichst getreu Rechnung zu tragen, wurden die Gewürze bei allen Würsten in den bei der Wurstfabrikation üblichen Prozentsätzen zugesetzt. Nachdem von beiden Wurstarten in der gewöhnlichen Weise durch Auslaugung mittels 0,85 %iger Kochsalzlösung ungefähr gleich starke klare Auszüge hergestellt waren, zeigte nach Hinzufügung des hämolytischen Systems die mit ablenkenden Substanzen gewürzte Wurstlösung vollkommene Ablenkung, während die Kontrollwurstlösung eine komplette Hämolyse aufwies. Durch Verdünnungen der Wurstlösungen, die den Nachweis von Pferdefleisch bei Antiserumzusatz noch nicht in Frage stellten, ließen sich die ablenkenden, nicht spezifischen Stoffe ausschalten.

Bei 20 Pferdewürsten, die mit Hilfe der Komplementbindung auf ihre ablenkenden Substanzen untersucht wurden, konnten wir bei den üblichen Verdünnungen der Eiweißlösungen in zwei Fällen vollständige Ablenkung, in 6 Fällen eine starke und in 4 Fällen eine schwache Hemmung beobachten. Komplette Hämolyse sahen wir dagegen nur in 8 Fällen auftreten.

Tabelle 3. Komplementbindung mit künstlichem hämolytischem System (nach Weidanz und Borchmann).

Extrakte (nach zweistünd. Auslaug. mittels 0,85%iger Kochsalzlösung)	Reaktion mittels Lackmuspapier	Komplement		Ambozeptor		5%ige Hammelblutlösung	Befund bei	
		0,1 ccm Testdosis	0,2 ccm	0,001 ccm Testdosis	0,01 ccm		0,1 Kompl. 0,001 Ambozeptor } Testdosis	0,2 Komplement 0,01 Ambozeptor
		ccm	ccm	ccm	ccm	ccm		
Kümmel . . .	neutral	0,1	0,2	0,001	0,01	1	komplette Hämolyse	kompl. Hämolyse
Schwarz. Pfeffer	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Weißer Pfeffer	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Koriander . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	geringe Hemmung	„
Majoran . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	starke Hemmung	„
Nelke	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Muskatnuß . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	geringe Hemmung	„
Muskatblüte .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Thymian . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Ablenkung	„
Ingwer . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Hämolyse	„
Piment . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Anis	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Kardamom . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Fenchel . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Zimmet . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Paprika . . .	schw. sauer	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Ablenkung Hämolyse	„
Paprika, neutral.	neutral	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Dill	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Weizenmehl .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Roggenmehl . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Rohrzucker . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Semmel . . .	„	1,0	0,2	0,001	0,01	1	geringe Hemmung	„
Dextrin . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Hämolyse	„
Stärke . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Zwiebel . . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	geringe Hemmung	„
Knoblauch . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Hemmung	„
Holzessig . .	sauer	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Ablenkung	„
do. neutralis.	neutral	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„
Darmröte . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	Hämolyse	„
0,85%ige Kochsalzlösung . .	„	0,1	0,2	0,001	0,01	1	„	„

1 Stunde in den Brutschrank bei 37° C. — 1 Stunde in den Brutschrank bei 37° C.

Mit der zum Vergleich herangezogenen Präzipitinmethode konnte bei beiden Wurstsorten in den ursprünglichen Verdünnungen gleichfalls der Zusatz von Pferdefleisch nachgewiesen werden.

Wie bereits oben erwähnt, dürfte die Komplementbindungsmethode eine praktische Bedeutung bei der Prüfung von gekochten Würsten (Blut- und Leberwürsten) erlangen, weil bei diesen die lösliche Eiweißmenge so verringert sein kann, daß sie sich mittels Präzipitation nicht mehr nachweisen läßt. In sehr vielen Fällen gelang es uns jedoch auch mit Blut- und Leberwürsten noch eine spezifische Reaktion zu erzielen. Weidanz und Borchmann haben zu

diesem Zweck vergleichende Untersuchungen an besonders zu diesem Zweck hergestellten Brühwürsten vorgenommen.

Tabelle 4. Präzipitation.

Gemische je 0,03, bestehend aus 1 Teil Pferdeserum. 1000 Teilen Extraktauszügen von:	Reaktion mittels Lackmuspapier	Pferdeantiserumzusatz Titer 1:20000	Resultat
Kümmel	neutral	0,03 ccm	positiv
Pfeffer, schwarzer	„	0,03 „	„
Pfeffer, weißer	„	0,03 „	„
Koriander	„	0,03 „	„
Majoran	„	0,03 „	„
Nelke	„	0,03 „	„
Muskatnuß	„	0,03 „	„
Muskatblüte	„	0,03 „	„
Thymian	„	0,03 „	„
Ingwer	„	0,03 „	„
Piment	„	0,03 „	„
Anis	„	0,03 „	„
Kardamom	„	0,03 „	„
Fenchel	„	0,03 „	„
Zimmt	„	0,03 „	„
Paprika	schwach sauer	0,03 „	„
Paprika (neutralisiert)	neutral	0,03 „	„
Dill	„	0,03 „	„
Zwiebel	„	0,03 „	„
Knoblauch	„	0,03 „	„
Weizenmehl	„	0,03 „	„
Roggenmehl	„	0,03 „	„
Semmel	„	0.03 „	„
Stärke	„	0.03 „	„
Dextrin	„	0,03 „	„
Rohrzucker	„	0.03 „	„
Holzessig	sauer	0,03 „	„
Holzessig (neutralisiert)	neutral	0,03 „	„
Darmröte	„	0,03 „	„
0,85%ige Kochsalzlösung 0,03 ccm	„	0,03 „	„

Die nach ihren Angaben hergestellten Würste, sog. „Knobländer", bestanden aus Pferdefleisch mit einem Zusatz von 25% Rindertalg und Schweinefett, sowie den gebräuchlichen Salzen und Gewürzen.

Die Würste wurden untersucht:

1. roh,
2. heiß geräuchert (1—2 Stunden bei etwa 70—90° C über offenem Feuer),
3. heiß geräuchert und 6 Minuten, wie gebräuchlich, in siedendem Wasser gebrüht,
4. heiß geräuchert und 15 Minuten, also mehr als üblich, in siedendem Wasser gebrüht.

Die Auslaugung der in den heiß geräucherten und gebrühten Würsten etwa noch vorhandenen Eiweißstoffe wurde in der oben beschriebenen Weise vorgenommen.

Mit der Salpetersäurekochprobe konnten nunmehr in den aus der heiß geräucherten, sowie aus der heiß geräucherten und 6 Minuten gebrühten Wurst deutlich Eiweiß nachgewiesen werden. Aus der Lösung der heiß geräucherten und 15 Minuten gebrühten Wurst ließ sich mittels der erwähnten Eiweißprobe keine Fällung erzielen. Es konnte nun sowohl in der heiß geräucherten als auch in der heiß geräucherten und 6 Minuten gebrühten Wurst mit der Präzipitin- und Komplementbindungsmethode deutlich der Nachweis von Pferdefleisch erbracht werden. Auch die Prüfung auf Rindertalg fiel positiv aus. Dagegen war in der heiß geräucherten und 15 Minuten gebrühten Wurst mit der Präzipitation Pferdefleisch nicht mehr nachweisbar, während bei der Komplementbindungsmethode noch mäßige Hemmung beobachtet wurde, die aber als positive Reaktion in der Praxis von uns nicht angesprochen wird. Nur komplette Ablenkung darf als positive Reaktion angesehen werden. Bei in Büchsen sterilisierten Würsten versagten beide Methoden.

Wie verhält es sich nun mit der Überlegenheit der Komplementbindungsmethode gegenüber der Präzipitinmethode bei gekochten Würsten, die ablenkende, koktostabile Substanzen enthalten?

Wir haben bereits gesehen, daß man durch Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeiten diese Fehlerquellen beseitigen kann. Dieser Weg verbietet sich aber bei gekochten Würsten schon deshalb von selbst, weil sie nur einen ganz schwachen Eiweißauszug liefern, so daß eine weitere Verdünnung den positiven Ausfall der Reaktion in Frage stellt. Hier würde also die Komplementbindungsmethode versagen, während sich mit der Präzipitinmethode unter Umständen noch positve Ergebnisse erzielen lassen.

Zwecks Prüfung dieser Frage wurden sogen. Breslauer Würste mit einem Zusatz von 10% Pferdefleisch, sowie mit verschiedenen ablenkenden Gewürzen und Salzen hergestellt, und zwar rohe, heiß geräucherte und, wie gebräuchlich, 6 Minuten gebrühte, sowie heiß geräucherte und 15 Minuten gekochte.

Bei den rohen Würsten konnte durch beide Methoden mit Sicherheit der Nachweis von Pferdefleisch erbracht werden. Die bereits an und für sich ablenkende Wurstlösung mußte bei der Komplementablenkung natürlich stark verdünnt werden.

Bei der heiß geräucherten Wurst ließ sich mit dem Uhlenhuthschen Verfahren eine deutliche, nach etwa 5—10 Minuten auftretende spezifische Reaktion beobachten, desgleichen bei der heiß geräucherten und 6 Minuten gebrühten Wurst. In letzterem Falle trat die Reaktion allerdings etwas schwächer und später, etwa nach 10—20 Minuten auf. Die Komplementbindungsmethode führte bei der lediglich heiß geräucherten Wurst zu einem positiven, bei der heiß geräucherten und nachträglich 6 Minuten gebrühten Wurst dagegen zu einem negativen Ergebnis.

Bei den heiß geräucherten und 15 Minuten gekochten Würsten versagten beide Methoden, die Komplementbindung und die Präzipitation. Die Gründe hierfür haben wir bereits oben ausführlich erörtert. Wenn man von dem letzten Fall absieht, wo durch den längeren Kochprozeß anscheinend sämtliche Eiweißstoffe koaguliert waren, zeigte sich in einem Falle mithin die Präzipitation der Komplementbindung überlegen.

Die angeblich größere Spezifität der Neisser-Sachsschen Methode gegenüber dem Uhlenhuthschen Verfahren spielt für die Praxis eine

unwesentliche Rolle. Denn bezüglich der Präzipitinmethode ist die Gefahr einer Täuschung durch heterologe Trübungen mit Rücksicht auf den vorgeschriebenen Verdünnungsgrad von 1 : 300 und die von Uhlenhuth geforderte beschränkte Beobachtungsdauer ausgeschlossen. Aber selbst wenn man gleichwohl das Auftreten heterologer Trübungen bei dieser Verdünnung als möglich annehmen wollte, so können sie denjenigen, der die Präzipitinreaktion kennt, nicht irre führen (Nuttall).

Aus unseren vergleichenden Untersuchungen ergibt sich, daß die Neisser-Sachssche Komplementbindungsmethode wegen ihrer Empfindlichkeit bei gekochten Würsten in vielen Fällen gute Dienste leisten wird.

Die von einigen Autoren auch bei starker Konzentration der Untersuchungsflüssigkeit und bei Mischungen verschiedener Eiweißstoffe betonte größere Spezifität der Komplementbindung kommt für die praktischen Untersuchungen zum Nachweis von Pferdefleisch in der Wurst nicht in Betracht.

Dem Vorzug der größeren Empfindlichkeit der Komplementbindungsmethode gegenüber der Präzipitinmethode stehen bezüglich der praktischen Anwendung aber folgende beachtenswerte Nachteile entgegen:

Erstens führt die Komplementbindungsmethode im Gegensatz zur Präzipitation überhaupt nicht zum Ziel, wenn die Untersuchungsflüssigkeit bereits ohne Antiserumzusatz ablenkend wirkt, so daß dieser Fehler nur auf Kosten der positiven Reaktion beseitigt werden kann, oder wenn das verwendete Antiserum bereits für sich allein in der für die Reaktion notwendigen Menge ablenkt, was allerdings nur selten vorkommt.

Zweitens ist die Technik der Komplementbindungsmethode derartig umständlich und in ihrer Beurteilung so schwierig, daß ihre Einführung in die allgemeine Praxis nicht empfohlen werden kann.

Auch ist die Ausführung der Methode außerordentlich zeitraubend. Während die Uhlenhuthsche Methode nach Herstellung der klaren Untersuchungslösung, selbst bei vorhergehender Titerbestimmung längstens 45 Minuten beansprucht, erfordert die Ausführung der Komplementbindungsmethode einschließlich der notwendigen Voruntersuchungen mindestens 6—8 Stunden.

Ferner sind für die Komplementbindung eine größere Zahl von Reagenzien notwendig, deren Beschaffung überdies kostspielig und umständlich ist. Während bei der Präzipitation nur Pferdeantiserum und normales Kaninchenserum verwendet wird, benötigt die Komplementbindungsmethode außerdem noch ein hämolytisches Serum, frisches Meerschweinchenserum und frisches Hammelblut.

Dazu kommt, daß man in der Praxis mit der Präzipitinmethode allein auskommt. In der Auslandsfleischbeschau handelt es sich um 4 kg schwere Fleischstücke, aus denen stets genügende Mengen von reaktionsfähigem Eiweiß extrahiert werden können. Und auch bei Verfälschungen der Wurst mit Pferdefleisch ist stets mit großen Mengen (mindestens 10%) zu rechnen.

Die Komplementbindungsmethode kann jedoch mit herangezogen werden als Bestätigungsreaktion bei positivem Ausfall der Präzipitinreaktion. Bei negativem Ausfall der Präzipitinreaktion ist allein auf Grund der eventuell positiven Komplementablenkung ein Urteil in der Praxis nicht abzugeben.

Wir möchten daher aus diesen Gründen für die Praxis zunächst die sehr einfache Präzipitinmethode empfehlen. Bei gekochten Würsten wird dagegen die Komplementbindungsmethode wegen ihrer großen Empfindlichkeit in vielen Fällen gute Dienste leisten (Wassermann).

Was nun die **quantitative biologische Eiweißbestimmung**, die von Schulz (p. 89) auch **für die Nahrungsmittelkontrolle** empfohlen ist, betrifft, so hat sie für die Praxis wenig Bedeutung, da sie einmal nur unter außerordentlich günstigen Bedingungen wirksam sein kann, und da zweitens der Begriff der Verfälschung ganz unabhängig von der Menge des verbotenen Fleisches ist. Soll eine quantitative Methode einwandfrei sein, so müssen zwei Vorbedingungen erfüllt sein:

1. in der zu untersuchenden Fleischeiweißlösung müssen sämtliche löslichen Eiweißkörper der einzelnen Fleischsorten auch wirklich gelöst sein:
2. in gleich großen Stücken einer Fleischsorte — gleichgültig, ob fett oder mager — müssen gleich große Mengen löslicher Eiweißkörper vorhanden sein.

Diese Vorbedingungen werden erfüllt bei Blutgemischen, falls nicht die einzelnen Blutsorten vor der Mischung Verluste ihrer löslichen Eiweißkörper erlitten haben; auch bei Fleischgemischen, die von gleich frischem und gleich magerem Fleisch hergestellt sind, würden diese Voraussetzungen annähernd zutreffen, wie das die Schulzschen Laboratoriumsversuche bestätigt haben.

Ganz anders verhält sich dagegen eine quantitative Bestimmung in der Praxis, wo absolut kein Anhalt gegeben ist, ob zur Mischung fettes oder mageres Fleisch benutzt wurde, oder ob bei den einzelnen Fleischsorten vor der Mischung — sei es durch Fäulnis oder leichtes Kochen, Räuchern usw. — Zerstörungen der löslichen Eiweißkörper eingetreten waren.

Eine weitere allerdings weit weniger wichtige praktische Anwendung des biologischen Verfahrens dürfte in Frage kommen bei der **Untersuchung von Nährpräparaten** (Uhlenhuth), wenn der Verdacht auf Pferdefleisch- oder Pferdeblutzusatz vorliegt. Daß man mit der biologischen Methode bei derartigen Präparaten, vorausgesetzt, daß sich mittels 0,85 %iger Kochsalzlösung die für die Reaktion erforderlichen Eiweißstoffe extrahieren lassen, wohl zum Ziele kommen kann, haben diesbezügliche Versuche gezeigt. So konnten wir den Nachweis führen, daß das im Handel erhältliche Hämatogen (Hommel) und Hämoglobin Rindereiweiß enthält. Wie bereits oben erwähnt, konnten wir in Übereinstimmung mit Horiuchi und v. Gruber sowie W. A. Schmidt feststellen, daß in dem Fleischsaft „Puro", der aus Preßsaft von frischem Ochsenfleisch hergestellt sein soll, kein lösliches Rindereiweiß enthalten ist, sondern daß das darin vorhandene Eiweiß aus Hühnereiweiß besteht.

Verfügungen.

I.

Deutsches Reich.

Wortlaut des § 16 Abs. 3 der Anlage a zu den am 1. April 1908 in Kraft getretenen Ausführungsbestimmungen D zum Fleischbeschaugesetz (Centralbl. für das Deutsche Reich 1908, pag. 26):*)

„Beim Vorliegen des Verdachtes verbotswidriger Einfuhr von zubereitetem Einhuferfleisch (§ 2 Abs. 1 Nr. 4) ist die biologische Untersuchung auszuführen. Sofern diese Untersuchung, z. B. bei ungeeigneter Beschaffenheit des Materiales, nicht zu einem entscheidenden Ergebnisse führt, ist die chemische Untersuchung (Anlage a zu den Ausführungsbestimmungen D, erster Abschnitt unter I) vorzunehmen.

Zur Ausführung der biologischen Untersuchung auf Pferdefleisch und anderes Einhuferfleisch sind mit einem ausgeglühten oder ausgekochten Messer aus der Tiefe des verdächtigen Fleischstückes etwa 30 g Muskelfleisch, möglichst ohne Fettgewebe, von einer frisch hergestellten Schnittfläche zu entnehmen und auf einer ausgekochten, mit ungebrauchtem Schreibpapier bedeckten Unterlage durch Schaben mit einem ausgekochten Messer zu zerkleinern. Die zerkleinerte Fleischmasse wird in ein ausgekochtes oder sonst durch Hitze sterilisiertes, etwa 100 ccm fassendes Erlenmeyersches Kölbchen gebracht, mit Hilfe eines ausgekochten, sterilisierten Glasstabes gleichmäßig verteilt und mit 50 ccm sterilisierter 0,85%iger Kochsalzlösung übergossen. Gesalzenes Fleisch ist zuvor in einem größeren sterilisierten Erlenmeyerschen Kolben zu entsalzen, indem man es mit sterilisiertem Wasser übergießt und letzteres, ohne zu schütteln, während zehn Minuten mehrmals erneuert. Das Gemisch von Fleisch und 0,85%iger Kochsalzlösung bleibt zur Ausziehung der im Fleische vorhandenen Eiweißsubstanzen etwa drei Stunden bei Zimmertemperatur oder über Nacht im Eisschrank stehen und darf, um eine klare Lösung zu erhalten, nicht geschüttelt werden. Zur Feststellung, ob die für die Untersuchung nötige Menge Eiweiß in Lösung gegangen ist, sind etwa 2 ccm der Ausziehungsflüssigkeit in ein sterilisiertes Reagenzglas zu gießen und tüchtig durchzuschütteln. Entwickelt sich dabei ein feinblasiger Schaum, der längere Zeit stehen bleibt, so ist der Auszug verwendbar. Die zu untersuchende Eiweißlösung muß für die Ausführung der biologischen Untersuchung wie alle übrigen zur Verwendung kommenden Flüssigkeiten vollständig klar sein. Zu diesem Zwecke muß der Fleischauszug filtriert werden, und zwar entweder durch gehärtete Papierfilter oder, wenn ein klares Filtrat nicht erzielt wird, durch ausgeglühte Kieselgur auf Büchnerschen Trichtern oder auch durch Berkefeldsche Kieselgurkerzen. Das Filtrat ist für die weitere Prüfung geeignet, wenn es wie der unfiltrierte Auszug beim Schütteln schäumt und außerdem eine Probe (etwa 1 ccm) beim Kochen nach Zusatz eines Tropfens Salpetersäure vom spezifischen Gewichte 1,153 (=25%) eine opaleszierende Eiweißtrübung gibt, die sich nach etwa fünf Minuten langem Stehen als eben noch erkennbarer, flockiger Niederschlag zu Boden senkt. Dann besitzt das Filtrat die für die biologische Prüfung zweckmäßigste Konzentration (etwa 1:300). Ist das Filtrat zu konzentriert, so muß es solange mit sterilisierter Kochsalzlösung verdünnt werden, bis die Salpetersäurekochprobe den richtigen Grad der Verdünnung anzeigt. Ferner soll das Filtrat neutral, schwach sauer oder schwach alkalisch reagieren.

Von der filtrierten, neutral, schwach sauer oder schwach alkalischen, völlig klaren Lösung wird mit ausgekochter oder anderweitig durch Hitze sterilisierter Pipette je 1 ccm in zwei Reagenzröhrchen von je 10 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser (Röhrchen 1 und 2) gebracht. In ein Röhrchen 3 wird 1 ccm eines ebenfalls klaren, neutral oder alkalisch reagierenden, aus Pferdefleisch in gleicher Weise hergestellten Filtrates eingefüllt. Weitere Röhrchen 4 und 5 werden mit je 1 ccm einer ebenso hergestellten Schweine- oder Rindfleischlösung beschickt. In ein Röhrchen 6 wird 1 ccm sterilisierter 0,85%iger Kochsalzlösung gegossen. Die Röhrchen werden in ein kleines, passendes Reagenzglasgestell eingehängt. Sie müssen vor dem Gebrauch ausgekocht oder

*) Nach Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann, Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXVIII, Heft 3.

anderweitig durch Hitze sterilisiert und vollkommen sauber sein. Zum Einfüllen der verschiedenen Lösungen in die einzelnen Röhrchen sind je besondere, sterilisierte Pipetten zu benutzen. Zu den, wie angegeben, beschickten Röhrchen wird, mit Ausnahme von Röhrchen 2, je 0,1 ccm vollständig klares, von Kaninchen gewonnenes, Pferdeeiweiß ausfällendes Serum von bestimmtem Titer so zugesetzt, daß es an der Wand des Röhrchens herabfließt und sich auf seinem Boden ansammelt. Zu Röhrchen 2 wird 0,1 ccm normales ebenfalls völlig klares Kaninchenserum in gleicher Weise gegeben. Die Röhrchen sind bei Zimmertemperatur aufzubewahren und dürfen nach dem Serumzusatz nicht geschüttelt werden.

Beurteilung der Ergebnisse. Tritt in Röhrchen 1, ebenso wie in Röhrchen 3 nach etwa fünf Minuten eine hauchartige, in der Regel am Boden des Röhrchens beginnende Trübung auf, die sich innerhalb weiterer fünf Minuten in eine wolkige umwandelt und nach spätestens 30 Minuten als Bodensatz absetzt, während die Lösungen in den übrigen Röhrchen völlig klar bleiben, so handelt es sich um Pferdefleisch (oder anderes Einhuferfleisch). Später entstehende Trübungen dürfen als positive Reaktion nicht aufgefaßt werden. Zur besseren Feststellung der zuerst eintretenden Trübung können die Röhrchen bei auffallendem Tages- oder künstlichem Lichte betrachtet werden, indem hinter das belichtete Reagenzglas eine schwarze Fläche (z. B. schwarzes Papier oder dgl.) geschoben wird.

Das ausfällende Serum muß einen Titer von 1:20000 haben, d. h. es muß noch in der Verdünnung 1:20000 einer Lösung von Pferdeblutserum binnen 5 Minuten eine beginnende Trübung herbeiführen. Getrübtes oder auch nur opaleszierendes Serum ist nicht zu verwenden. Serum, das durch den Transport trübe geworden ist, darf nur gebraucht werden, wenn es sich in den oberen Schichten binnen 12 Stunden vollkommen klärt, so daß die trübenden Bestandteile entfernt werden können. Zur Untersuchung soll stets nur der Inhalt eines Röhrchens, nicht dagegen eine Mischung mehrerer Röhrchen verwendet werden."

II.

Preußen.

Ministerialverfügung, betr. Schlachtvieh- und Fleischbeschau vom 13. Okt. 1908. (Ministerialbl. der Königl. Preuß. Verw. f. Landwirtschaft usw.)

Nach § 16 der Anlage a der vom Bundesrat am 30. Januar 1908 neu erlassenen Ausführungsbestimmungen D zu dem Gesetze betr. die Schlachtvieh- und Fleischbeschau vom 3. Juni 1900 (Zentralbl. f. d. Deutsche Reich, p. 59) ist zum Nachweise von Pferdefleisch bei der Auslandsfleischbeschau in erster Linie das biologische Verfahren vorgeschrieben worden. In Anmerkung 3 zu § 16 ist dieses Verfahren näher beschrieben. Außerdem ist in einer Abhandlung in Bd. XXVIII, pag. 449 ff. der Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte (Verlag von Julius Springer, Berlin N., Monbijouplatz 3) die Technik und Methodik dieses Verfahrens eingehend besprochen.

Das Verfahren wird sich mit Nutzen auch bei Untersuchungen von Fleisch im Inlande dort, wo es sich um den Nachweis von Pferdefleisch handelt, insbesondere beim Verdacht von Wurstverfälschungen anwenden lassen. Das Kaiserliche Gesundheitsamt ist in der Lage, das Pferdefleisch ausfällende Serum in der erforderlichen Menge, ebenso wie es bisher schon für die Beschaustellen für ausländisches Fleisch geschieht, auch für andere Untersuchungsanstalten vorrätig zu halten, und ist bereit, das Serum zum Preise von 2 M. für 1 ccm, eine Menge, die für eine Untersuchung vollkommen ausreicht, abzugeben.

Das Untersuchungsverfahren beruht darauf, daß in Auszügen von Pferdefleischeiweiß, nicht von Eiweiß anderer Fleischarten, durch ein spezifisches Serum Trübung erzeugt wird. Nicht anwendbar ist es dann, wenn das Fleischeiweiß in unlöslichen Zustand übergeführt ist, wie es z. B. durch Kochen und scharfes Räuchern geschieht. Seine Ausführung und die Beurteilung der Ergebnisse ist nicht ganz einfach. Nur mit einer gewissen Einübung und Erfahrung läßt sich ein sicheres Urteil mit ihm gewinnen. Das Kaiserliche Gesundheitsamt hat sich bereit erklärt, Sachverständigen, die sich mit dem biologischen Verfahren vertraut machen wollen, dazu in seinem Laboratorium Gelegenheit zu bieten.

Ew. Hochwohlgeboren ersuchen wir, die mit der polizeilichen Nahrungsmittelkontrolle beauftragten Untersuchungsämter auf das Verfahren aufmerksam

zu machen, zugleich aber auch auf die Fehlerquellen hinzuweisen und ihnen nahezulegen, daß sie vor praktischer Verwendung des Serums sich hinreichende Fertigkeit in der Ausführung des Verfahrens sichern. Falls Angestellte der Untersuchungsämter sich im Kaiserlichen Gesundheitsamt über die Anwendung des Verfahrens unterrichten wollen, ersuchen wir um Angabe der Namen, damit wir für Mitteilung an das Kaiserliche Gesundheitsamt und Festsetzung einer diesem genehmen Zeit sorgen können.

Für die Anwendung des Verfahrens bei der Auslandsfleischbeschau behält es bei den Anordnungen in dem Erlasse vom 6. März d. J. — M. f. L. I A IIIe 1493 — F. M. III 3979 — M. d. g. A. M. 6065) — sein Bewenden.

III.

Württemberg.

Erlaß des Ministeriums des Innern an die Stadtdirektion Stuttgart, die Oberämter und die Ortspolizeibehörden, betr. den Nachweis verbotswidrig feilgehaltenen oder verwendeten Fleisches von Pferden und anderen Einhufern vom 17. Dez. 1908. Amtsblatt des Königl. Württemb. Minist. des Inneren, pag. 377. (Vgl. auch die Preußische Ministerialverf. vom 13. Okt. 1908. Ministerialblatt des Königl. Preuß. Verwaltung für Landwirtschaft usw. 1908).

Nach § 16 der Anlage a der vom Bundesrat am 30. Januar 1908 zum Fleischbeschaugesetz vom 3. Juni 1900 (Reichsgesetzblatt pag. 547) neu erlassenen Ausführungsbestimmungen D, betr. die Untersuchung und gesundheitspolizeiliche Behandlung des in das Zollinland eingehenden Fleisches (Zentralblatt f. d. Deutsche Reich, pag. 59), ist zum Nachweise von Pferdefleisch und anderem Einhuferfleisch in erster Linie das biologische Verfahren vorgeschrieben worden, welches auf der Ausfällung des Pferdefleischeiweißes durch ein spezifisches Serum beruht und in der Anmerkung 3 zu der angeführten Bestimmung näher beschrieben ist.

Im Hinblick auf die Vorzüge dieses Verfahrens insbesondere vor dem bisher unter anderem vorgeschriebenen Verfahren der Glykogenbestimmung, das sich inzwischen als unsicher erwiesen hat, hält es das Ministerium für angezeigt, das biologische Verfahren auch bei den Untersuchungen von Fleisch im Inlande dort, wo es sich um den Nachweis von Pferdefleisch handelt, insbesondere beim Verdacht von Wurstverfälschungen, zur Anwendung zu bringen.

Die Ortspolizeibehörden werden daher unter Bezugnahme auf § 80, Abs. 4 der Ministerialverfügung vom 1. Februar 1903, betr. den Verkehr mit Schlachtvieh und Fleisch (Reg.-Bl. pag. 27), angewiesen, in denjenigen Fällen des Verdachts des verbotswidrigen Vorhandenseins von Pferde- oder anderem Einhuferfleisch oder aus solchem Fleisch hergestellter Fleischwaren in den Verkaufsräumen usw. der Metzger (vergl. § 80, Abs. 1a. a. O.), in welchen eine nähere Untersuchung durch einen geeigneten Sachverständigen nötig erscheint, die vorläufig beschlagnahmte Ware oder die davon entnommene Probe (vergl. § 80, Abs. 2a. a. O.) zum Zweck der biologischen Untersuchung an das Hygienische Laboratorium, tierärztliche Abteilung des K. Medizinalkollegiums, welches für solche Untersuchungen eingerichtet ist, einzusenden.

Bei diesem Anlaß wird auch darauf aufmerksam gemacht, daß die in dem vorstehend angeführten § 80, Abs. 1 sowie im § 79 der Ministerialverfügung vom 1. Februar 1903 erwähnte Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 18. Februar 1902 durch die Bekanntmachung vom 4. Juli 1908 (Reichs-Gesetzbl. pag. 470) abgeändert worden ist. (Veröffentlichung des Kaiserl. Gesundheitsamtes, 1909, 7.)

Siehe Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes 1900, pag. 699, 1908, pag. 411, 1903, pag. 498, 1902, pag. 184, 1908, pag. 843.

Gutachten.

1. Für den biologischen Nachweis von Pferdefleisch (in der Auslandsfleischbeschau).

2. Für den biologischen Nachweis von Pferdefleisch in der Wurst (Nahrungsmittelgesetz).

ad 1. Bei der Auslandsfleischbeschau vom 5. Mai 1908 erweckte der als Rindfleisch deklarierte Inhalt einer aus Amerika stammenden, mit W. J. 104 bezeichneten Tonne den Verdacht, daß es sich hier um Pferdefleisch handeln könne.

Die etwa 5 kg schweren, gepökelten Fleischstücke zeigten in ihrem Innern eine auffallend dunkelrote Färbung, das sehr spärlich vorhandene Fett war von weicher Konsistenz und gelber Farbe.

Zum Nachweis, ob es sich im vorliegenden Falle um Pferdefleisch handle, wurde die biologische Methode angewandt.

Das Verfahren beruht auf der Tatsache, daß das Blutserum eines mit Pferdeserum oder Pferdefleischsaft wiederholt eingespritzten Kaninchens die Eigenschaft besitzt, nur in der zur Vorbehandlung benutzten Blut- oder Fleischlösung einen Niederschlag zu erzeugen. Außer in Pferdefleischlösung gibt ein solches Kaninchenserum noch einen Niederschlag in einer Eselblut- oder Eselfleischlösung, eine Tatsache, welche in der zoologischen Verwandtschaft beider Tiere ihre Erklärung finden dürfte; in Lösungen anderer Fleischarten tritt eine Reaktion nicht auf.

Von einem 4,5 kg schweren auf Pferdefleisch verdächtigen Fleischstück, das auf eine ausgekochte, mit ungebrauchtem Schreibpapier bedeckte Holzunterlage gelegt war, wurde nach Herstellung einer frischen Schnittfläche aus der Tiefe des Fleischstückes mit einem ausgeglühten Messer etwa 30 g möglichst fettfreies Muskelfleisch abgeschabt. Die so zerkleinerte Fleischmasse wurde darauf in einem ausgekochten, etwa 500 ccm fassenden Erlenmeyerschen Kolben zur Entsalzung mit destilliertem Wasser übergossen, letzteres wurde ohne zu schütteln während 10 Minuten mehrmals erneuert. Nachdem das Wasser vorsichtig abgegossen war, wurde das so entsalzene Fleisch mit etwa 50 ccm sterilisierter 0,85%iger Kochsalzlösung übergossen. Das Gemisch blieb dann zur Ausziehung der in dem Fleisch vorhandenen Eiweißsubstanzen 3 Stunden bei Zimmertemperatur, ohne geschüttelt zu werden, stehen. In gleicher Weise wurden zur Kontrolle Lösungen aus Pferde-, magerem Rind- und Schweinefleisch hergestellt.

Zur Feststellung, ob in der Untersuchungsflüssigkeit die für die biologische Reaktion nötige Menge Eiweiß vorhanden war, wurden etwa 2 ccm der Ausziehungsflüssigkeit in ein steriles Reagenzglas gegossen und stark geschüttelt. Hierbei entwickelte sich ein feinblasiger Schaum, der selbst nach längerer Zeit nicht verschwand, ein Zeichen, daß der Auszug verwendbar war. Die in dem Kolben befindliche Ausziehungsflüssigkeit wurde durch gehärtete Papierfilter zweimal, bis das Filtrat vollkommen klar war, filtriert.

Um die für die biologische Reaktion erforderliche Eiweißverdünnung von etwa 1:300 zu erhalten, wurde das Filtrat solange mit 0,85%iger Kochsalzlösung verdünnt, bis die Salpetersäurekochprobe eine opaleszierende Eiweißtrübung zeigte, die sich nach etwa 5 Minuten langem Stehen als eben noch erkennbarer flockiger Niederschlag zu Boden senkte.

In derselben Weise wurden die Kontrollösungen aus Pferde-, Rind- und Schweinefleisch hergestellt. Um in den 4 Filtraten möglichst gleiche Eiweißverdünnungen zu haben, wurde nochmals kurz hintereinander mit je 1 ccm der einzelnen Lösungen die Eiweißkochprobe ausgeführt und die Filtrate, falls nötig, so verdünnt, bis die Proben genau gleich ausfielen.

Durch Lackmuspapier wurde nunmehr festgestellt, daß sämtliche Fleischauszüge neutral reagierten.

Von der Untersuchungsflüssigkeit wurde mit einer ausgekochten Pipette je 1 ccm in Reagenzröhrchen von je 10 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser (Röhrchen 1 und 2) gebracht. In Röhrchen 3 wurde 1 ccm von einem Pferdefleischauszug eingefüllt. Röhrchen 4 und 5 wurden mit je 1 ccm der Schweine- und Rindfleischlösung beschickt. In Röhrchen 6 wurde 1 ccm der zur Verdünnung der einzelnen Lösungen verwandten 0,85%igen Kochsalzlösung ge-

gossen. Die genau bezeichneten Röhrchen wurden in ein Uhlenhuthsches Reagenzglasgestell gehängt. Zu den, wie angegeben, beschickten Röhrchen wurde mit Ausnahme von Röhrchen 2 je 0,1 ccm vollständig klares, von Kaninchen gewonnenes, Pferdeeiweiß ausfällendes Serum von einem Titer von 1:20000 so zugesetzt, daß es an dem Rande des Röhrchens herabfloß und sich auf seinem Boden ansammelte. Zu Röhrchen 2 wurde 0,1 ccm normales, ebenfalls völlig klares Kaninchenserum, in gleicher Weise gegeben.

In Röhrchen 1, desgleichen in Röhrchen 3 trat nach Zusatz des Serums sofort eine hauchartige Trübung auf, die sich nach etwa 3 Minuten in eine mehr wolkige umwandelte und nach weiteren 15 Minuten als flockiger Bodensatz absetzte. Die Lösung in den übrigen Röhrchen blieben selbst nach einstündigem Stehen vollständig klar. Der Versuch, der im Laufe des Tages wiederholt wurde, zeigte denselben Erfolg.

Auf Grund obigen Befundes gebe ich mein Gutachten dahin ab, daß das untersuchte Fleischstück Einhuferfleisch (Pferdefleisch) ist.

Weidanz.

---

ad 2. In der Strafsache gegen den Fleischer X. zu B. wegen Vergehens gegen das Nahrungsmittelgesetz ist mir vom Königl. Polizei-Präsidium zu B. unter dem 5. Mai 1908 — Journ.-Nr. 120/08 — eine Wurst übersandt mit dem Ersuchen, festzustellen, ob in der fraglichen Ware Pferdefleisch nachzuweisen sei.

Die äußere Besichtigung ergibt folgenden Befund:

Die etwa ein Pfund schwere Wurst ist von fester Konsistenz. Die Schnittfläche sieht gleichmäßig dunkelbraunrot aus und hat eine eigentümlich klebrige Beschaffenheit. Die Bruchfläche enthält sehr viele trockene, dünne, zähe, beim Durchbrechen sich lang ausziehende Fleischfasern. Dieser makroskopische Befund erweckte bereits den Verdacht der Verfälschung der Wurst mit Pferdefleisch.

Zum sicheren Nachweis, ob in der vorliegenden Wurst Pferdefleisch enthalten ist, wurde das biologische Verfahren angewandt.

Die Methode beruht auf der Tatsache, daß das Blutserum eines mit dem Blutserum oder Fleischsaft irgend eines Tieres wiederholt eingespritzten Kaninchens die Eigenschaft besitzt, nur in der zur Vorbehandlung benutzten Blut- oder Fleischlösung einen Niederschlag zu erzeugen. Das Serum eines mit Pferdeblut vorbehandelten Kaninchens gibt z. B. einen starken Niederschlag in einer Pferdeblut- sowie Pferdefleischlösung, einen etwas schwächeren in einer gleich starken Eselblut- oder Eselfleischlösung, eine Tatsache, welche in der zoologischen Verwandtschaft beider Tiere ihre Erklärung finden dürfte; in Lösungen anderer Fleischarten tritt eine Reaktion nicht auf.

Von der Untersuchungswurst, die auf eine ausgekochte, mit ungebrauchtem Schreibpapier bedeckte Holzunterlage gelegt war, wurden nach Herstellung einer frischen Schnittfläche mit einem ausgeglühten Messer etwa 50 g abgeschabt. Soweit es möglich war, wurde das Material aus der Mitte der dicksten Stelle der Wurst genommen. Die Fleischmasse wurde darauf in ein ausgekochtes, etwa 100 ccm fassendes Erlenmeyersches Kölbchen gebracht, mit Hilfe eines ausgekochten Glasstabes gleichmäßig auf dem Boden des Kölbchens verteilt und mit etwa 50 ccm sterilisierter 0,85%iger Kochsalzlösung übergossen. Zur Ausziehung der in der Wurst vorhandenen Eiweißsubstanzen blieb die Lösung etwa 3 Stunden bei Zimmertemperatur, ohne geschüttelt zu werden, stehen. In gleicher Weise wurden zur Kontrolle Lösungen aus einer 30% Pferdefleisch enthaltenden Wurst, sowie einer sicher kein Pferdefleisch enthaltenden Wurst hergestellt.

Zur Feststellung, ob in der Untersuchungslösung, die für die biologische Reaktion nötige Menge Eiweiß in Lösung übergegangen war, wurden etwa 2 ccm der Ausziehungsflüssigkeit in ein steriles Reagenzglas gegossen und stark geschüttelt. Hierbei entwickelte sich ein feinblasiger Schaum, der selbst nach längerer Zeit nicht verschwand, ein Zeichen, daß der Auszug verwendbar war. Die in dem Kölbchen befindliche Ausziehungsflüssigkeit wurde darauf zur Befreiung ihrer korpuskulären Teile durch gehärtete Papierfilter filtriert. Da das Filtrat trotz wiederholter Filtration auf diese Weise nicht klar wurde, so wurde die Filtration durch ausgeglühte Kieselgur auf sterilisiertem Büchnerschen Trichter vorgenommen, wodurch sofort ein klares Filtrat erzielt wurde.

Um die für die biologische Reaktion erforderliche Eiweißverdünnung von etwa 1:300 zu erhalten, wurde das Filtrat solange mit 0,85%iger sterilisierter Kochsalzlösung verdünnt, bis die Salpetersäure-Kochprobe eine opaleszierende Eiweißtrübung zeigte, die sich nach etwa 5 Minuten langem Stehen als flockiger Niederschlag zu Boden senkte.

In derselben Weise wurden die Eiweißlösungen aus den beiden Kontrollwürsten hergestellt. Um in den drei Filtraten möglichst gleiche Eiweißverdünnungen zu haben, wurde nochmals kurz hintereinander in gleich starken Reagenzröhrchen mit je 1 ccm der einzelnen Lösungen die Salpeter-Kochprobe ausgeführt und die einzelnen Filtrate, falls nötig, so verdünnt, bis die Eiweißproben genau gleich ausfielen.

Durch Lackmuspapier wurde nunmehr festgestellt, daß sämtliche Wurstauszüge neutral reagierten.

Von der Untersuchungsflüssigkeit wurde mit einer ausgekochten Pipette je 1 ccm in drei Reagenzröhrchen von je 11 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser (Röhrchen 1, 2 und 3) gebracht. In Röhrchen 4 wurde 1 ccm von dem Pferdewurstauszug gebracht. Röhrchen 5 wurde mit 1 ccm der kein Pferdefleisch enthaltenden Wurstlösung beschickt. In Röhrchen 6 wurde 1 ccm der zur Verdünnung der einzelnen Lösungen verwandten 0,85%igen Kochsalzlösung gegossen. Die genau bezeichneten Röhrchen wurden in ein passendes Uhlenhuthsches Reagenzglasgestell gehängt.

Mit Ausnahme von Röhrchen 2, zu dem 0,1 ccm klares, normales Kaninchenserum gesetzt und Röhrchen 3, das nicht beschickt wurde, wurden die übrigen Röhrchen mit 0,1 ccm vollständig klarem, von Kaninchen gewonnenem, Pferdeeiweiß ausfällendem Serum, das einen Titer von 1:20000 hatte, beschickt.

Der Zusatz von normalem und Pferdeeiweiß ausfällendem Kaninchenserum wurde mittels je einer besonderen graduierten, sterilen Pipette ausgeführt.

In Röhrchen 1, desgleichen in Röhrchen 4 trat sofort nach Zusatz des Serums eine hauchartige Trübung auf, die sich nach etwa 3—5 Minuten in eine mehr wolkige umwandelte und nach weiteren 15 Minuten als flockiger Bodensatz absetzte. Die Lösungen in den übrigen Röhrchen blieben selbst nach einstündigem Stehen vollständig klar.

Der Versuch, der im Laufe des Tages wiederholt wurde, zeigte denselben Erfolg.

Auf Grund dieses Befundes gebe ich mein Gutachten dahin ab, daß die untersuchte Wurst Einhuferfleisch (Pferdefleisch) enthält. Weidanz.

Ausführliche Zusammenstellung der Stoffe und Geräte, die für den biologischen Nachweis von Blut und Pferdefleisch notwendig bzw. wünschenswert erscheinen *).

I. Auslaugen des Untersuchungsmaterials.

1. Erlenmeyer-Kolben zu 100 g für die Auslaugung des Materials.
2. Fettstifte zur genauen Bezeichnung der einzelnen Kölbchen.
3. Ungebrauchte Konzeptpapierunterlagen für die jedesmalige Untersuchungsprobe.
4. Skalpelle zur Entnahme und Zerkleinerung des Untersuchungsmaterials.
5. Kleines Wiegemesser zum Zerkleinern des Untersuchungsmaterials.
6. Scheren zum Zerkleinern des Untersuchungsmaterials.
7. Bunsenbrenner mit Sparflamme zum Abglühen der Instrumente.
8. Glasstäbe zur gleichmäßigen Verteilung des Untersuchungsmaterials auf dem Boden der Erlenmeyerkölbchen.
9. Glasmesser oder Glasfeile zur Herstellung der Glasstäbe.
10. Flasche mit steriler 0,85%iger Kochsalzlösung, zur Auslaugung des Untersuchungsmaterials.
11. Handwage zum Abwiegen des Untersuchungsmaterials.
12. Flasche mit destilliertem Wasser zur eventuellen Entsalzung des Untersuchungsmaterials.
13. Meßzylinder zu 50 ccm zur Abmessung der Kochsalzlösung.
14. Eisschrank zum Aufbewahren des Untersuchungsmaterials, der Untersuchungsflüssigkeiten und Antisera.

II. Klärung der Untersuchungsflüssigkeiten.

15. Gewöhnliche Reagenzgläser 160/66 mm.
16. Reagenzglasgestell für große Reagenzgläser.

*) Zu beziehen durch F. & M. Lautenschläger, Berlin.

17. Glastrichter von 50 mm Durchmesser und mit schrägem Ablauf.
18. Gehärtete Papierfilter von 70 mm Durchmesser nach Schleicher & Schüll Nr. 575, 603 oder 605.
19. Büchnersche Trichter. Durchmesser 50 mm.
20. Saugflasche mit durchlochtem Gummistopfen für den Büchnerschen Trichter passend.
21. Filtrierpapier zur Einlage auf die Trichterplatte.
22. Flasche mit ausgeglühter Kieselgur.
23. Saugpumpe mit Gummischlauchverbindung für den Wasserleitungshahn, Gefällschlauch für die Saugpumpe, Rückschlagventil und Dreiwegehahn aus Glas.
24. Mikrofiltrierapparat mit Silberschmidtkerze und Stativ hierzu, mit zwei Haltern und einem Ring. (Zur Filtration kleinster Mengen Untersuchungsflüssigkeit.)
25. Eine anatomische Pinzette zur sterilen Herausnahme des Filtrats aus der Saugflasche.

III. Herstellung der für die biologische Reaktion geeigneten Eiweißlösungen und die Reaktion selbst.

26. Rotes und blaues Lackmuspapier zur Prüfung der Reaktion der Untersuchungsflüssigkeit.
27. Flasche mit 0,1 %iger Sodalösung oder Magnesiumoxyd zur Neutralisation der Untersuchungsflüssigkeiten.
28. Tropfflasche mit Salpetersäure spez. Gew. 1,153 für die Salpetersäurekochprobe.
29. Kleine Reagenzröhrchen 100/9 mm für die Ansetzung der biologischen Reaktion.
30. Reagenzglasgestell nach Uhlenhuth und Beumer zur Ausführung der Reaktion.
31. Feinpipetten (zum Ausblasen) zu 1 ccm mit 100 Teilstrichen zum Einfüllen der für die biologische Reaktion notwendigen Reagenzien.
32. Glasröhren von 5 mm Durchmesser zur Herstellung von Kapillarpipetten.
33. Gebläselampe mit Wasserstrahlgebläse und Asbestunterlage zum Ausziehen der Glasröhren zu Kapillarpipetten.
34. Uhrschälchen oder Glasklötze zum Kalibrieren der Kapillarpipetten.
35. Pipetten zu 10 ccm zur quantitativen Verdünnung der Eiweißlösungen mit Kochsalz.
36. Pipettenbüchse zur Aufnahme und Sterilisation der Pipetten.
37. Kleine Gläser (Schnapsgläser) zum Hineinstellen der mit spezifischem Serum gefüllten Röhrchen.
38. Schwarze Tafel zur Beobachtung der spezifischen Reaktion.
39. Doppelschalen von 22 cm Durchmesser zur Aufnahme der gebrauchten Utensilien und Reagenzien.
40. Wassergläser mit Watteeinlage zur Aufnahme der mit Untersuchungsflüssigkeit gefüllten Reagenzröhrchen.
41. Weiße, entfettete Watte.
42. Standzylinder ohne Ausguß zum Hineinstellen der gebrauchten Pipetten.

IV. Reinigen und Trocknen der bei der Reaktion gebrauchten Geräte.

43. Abwaschschüssel aus Steingut.
44. Soda zur Herstellung der zur Reinigung der Gläser gebrauchten Sodalösung.
45. Reagenzglasbürste mit Drahtstiel zum Reinigen der großen Reagenzgläser.
46. Gänsefederposen zum Reinigen der Uhlenhuthschen Röhrchen.
47. Rohe Schwefelsäure zum Reinigen der Glasgeräte.
48. Ballon mit destilliertem Wasser zum Nachspülen der gereinigten Uhlenhuthschen Röhrchen.
49. Trockengestell für gewöhnliche Reagenzröhrchen.
50. Trockengestell für Uhlenhuthsche Röhrchen.

V. Sterilisation der Geräte.

51. Nicht entfettete braune Watte zum Stopfen der Reagenzröhrchen, Erlenmeyer-Kolben usw.
52. Heißluftsterilisator zur Sterilisation der Glasgeräte.
53. Drahtkörbe für große und kleine Reagenzgläser.
54. Kochscher Dampftopf zur Sterilisation der Filtrierapparate.

VI. Die zur Herstellung der spezifischen Sera erforderlichen Geräte.

55. Kanülen zur Blutentnahme größerer Tiere.

56. Coopersche Schere zur Entfernung der Haare der Tiere über der Injektionsstelle.

57. Flasche mit 96%igem Alkohol zur Desinfektion der Injektionsstelle.

58. Blutzylinder mit Blutkuchenbeschwerer und Deckel.

59. Petrischalen zur Antrocknung von Blut oder Serum.

60. Wasserzentrifuge (nach Runne) zur Trennung von Blutkörperchen und Serum.

61. Porzellanmörser zum Zerreiben von angetrocknetem Injektionsmaterial.

62. Fleischpresse zur Herstellung von Fleischpreßsaft.

63. Transportkäfig für Kaninchen.

64. Kaninchenwage mit Gewichtsatz.

65. Ohrmarken zur Bezeichnung der Kaninchen.

66. Rasiermesser zum Rasieren der Impfstelle der Kaninchen bei intraperitonealer Impfung.

67. Injektionsspritzen.

68. Runde Präparatengläser mit eingeschliffenem Deckel zum Aufbewahren der Injektionsspritzen und Kanülen in Alkohol.

69. Kurze unten abgerundete Röhrchen zum Aufziehen des Injektionsmaterials in die Spritze.

70. Kaninchenkäfig zur Unterbringung der vorbehandelten Tiere.

71. Etiketten zur Bezeichnung der einzelnen Käfige.

72. Gebogene Nadeln mit Nadelhalter und Seide zur eventuellen Blutstillung nach der Probeblutentnahme.

73. Instrumentenkocher.

74. Sektionsbrett für Kaninchen.

75. Flasche mit Chloroform zur Betäubung der Kaninchen.

76. Flasche mit Äther zur Betäubung der Kaninchen.

77. Große Skalpelle, Pipetten und Scheren zur Öffnung der Brusthöhle des Kaninchens.

78. Pipette von 20 ccm Inhalt mit unten möglichst weiter Öffnung zum Aufziehen des ungeronnenen Kaninchenblutes aus der Brusthöhle.

79. Blutzylinder von Größe eines großen Zentrifugenglases mit Blutkuchenbeschwerer zur Aufnahme des Blutes von mit Pferdeeiweiß vorbehandelten Kaninchen und Auspressen des spezifischen Serums.

80. Platinnadel oder Platinspatel oder Glasspatel zum Lösen des geronnenen Blutes von der Wandung des Zylinders.

81. Serum-Filtrier-Abfüllapparat nach Uhlenhuth-Weidanz kompl., oder modifizierter Serumfiltrierabfüllapparat nach Uhlenhuth-Weidanz kompl.

82. Braune Röhrchen zum Einfüllen der spezifischen Sera.

83. Glasätztinte mit Filzuntersatz zur Bezeichnung der Serumröhrchen.

Anhang.

Über die Bestimmung der Herkunft von Mumienmaterial mit Hilfe spezifischer Sera.

Da bei der Ausführung spezifischer Reaktionen auf Blut- und Organeiweiß das Alter des betreffenden Materials eine wesentliche Rolle nicht zu spielen schien, lag es nahe, auch die ältesten uns zur Verfügung stehenden Organe zum Gegenstand weiterer Untersuchungen zu machen. Das sind bekanntlich die Mumien. So hat UHLENHUTH denn auch als erster bereits in Gemeinschaft mit BEUMER in dieser Beziehung Versuche an einer mehrtausendjährigen Mumie angestellt, jedoch mit durchaus negativem Ergebnis (Zeitschr. f. Medizinalbeamte 1903, Nr. 5 und 6.)

Später haben VON HANSEMANN und MEYER — ohne Kenntnis dieser Untersuchungen — angegeben, daß es ihnen gelungen sei, zwei ägyptische Mumien (es wurden im ganzen nur drei Mumien untersucht) auf biologischem Wege ihrer Herkunft nach zu bestimmen. Auf Grund ihrer Experimente kommen sie zu dem Schluß, „daß die Präzipitinreaktion selbst für mehrtausendjähriges Material nicht an Wirksamkeit verliert und daß durch diese biologische Methode der menschliche Ursprung von Mumienmaterial sich nachweisen läßt".

Diese Behauptung hat UHLENHUTH veranlaßt, seine früheren Untersuchungen in dieser Richtung wieder aufzunehmen und an einem größeren Material weiter fortzusetzen. Trotzdem diese nun aber weiterhin auch zu negativen Resultaten geführt haben, so halten wir es doch für wichtig, die Befunde hier kurz anhangsweise wiederzugeben.

Folgendes Mumienmaterial stand zur Verfügung:

1. Ägyptische Mumie, 2000—3000 Jahre alt. Hand und Unterarm mit Sehnen und Weichteilen. (Pathologisches Institut in Greifswald, Geh.-Rat GRAWITZ.)

2. Ägyptische Mumie: Unterschenkel, anscheinend von einem zirka zehnjährigen Kinde herrührend. Äußerlich sind die Eindrücke der Binden zu erkennen. Die gesamten Weichteile bilden eine relativ weite Röhre, in der die Tibia lose steckt. Beim Schneiden bröckeln zum Teil verkohlt aussehende Substanzen ab. Zur Untersuchung wurden dem Material sowohl von außen — der Haut entsprechende — als auch von innen — der Tibia entsprechende Schichten — entnommen. (Pathologisches Institut in Greifswald, Geh.-Rat GRAWITZ.)

3. Ägyptische Mumie, 3000 Jahre alt, mit 15 wohlerhaltenen Bindenschichten, darunter Weichteile und Reste eines Wirbelkörpers (Halssegment). (Anatomisches und pathologisches Institut in München, Prof. RÜCKERT und Prof. v. BOLLINGER.)

4. Schädelknochen und Weichteilreste einer Mumie aus einem ägyptischen Königsgrab, 3000—5000 Jahre alt. Die Weichteile stellen hellbraune, trockene Massen dar. (Berlin.)

5. Peruanische Mumie, Alter nicht angegeben. Trockene, tabakähnliche Massen (Muskelgewebe). (Berlin.)

6. Ägyptische Mumie, zirka 2000 Jahre alt. Trockene, braunschwarze Massen (Muskulatur). (Pathologisches Institut in Erlangen, Prof. HAUSER.)

7. Mumie, Alter nicht angegeben. Rötlich-gelbe, trockene, faserige Massen (Muskulatur). (Zaragoza, Dr. BASTERO LERGA.)

8. Mumie, gez. 22486. Sakkarah. Linker Masseter.
9. Mumie, gez. 4117. Graf Sack dedit. Halsmuskulatur.
10. Mumie, gez. 8665. Minutoli. Rechter Sternohyoideus.
11. Mumie, gez. 26105. Sakkarah. Stück vom rechten Ohr.
12. Mumie, gez. 26107. Sakkarah. Linker Sternohyoideus.

Nr. 8—12 sämtlich mehrere tausend Jahre alt. (Anatomisches Institut in Berlin, Geheimrat Prof. Waldeyer und Dr. Bartels.)

13. Ägyptische Mumie aus der XXI. Dynastie. Bröckelige, zum Teil faserige, graubraune Massen (Muskulatur). (Kairo, Prof. Schmidt.)

14. Teil einer Koptenmumie, aus dem fünften Jahrhundert. Haut und Weichteile, fettige, braungelbe Massen. (Kairo, Prof. Schmidt.)

15. Mumifizierte Reste eines Priesters der XXI. Dynastie aus Gournah (Theben), wahrscheinlich Milz. (Kairo, Prof. Schmidt.)

16. Reste einer ägyptischen Mumie, gelbe faserige Massen (Muskulatur), mehrere tausend Jahre alt. (Berlin, Dr. Friedenthal.)

17. Mumie Va 5813. Totenfeld von Ancon, Peru. (Bei Reiss und Stübel, 1875, No. 24, in der Publikation Tafel XIX, Fig. 1.) Männliches Geschlecht, mittleres Alter, auffallend kräftig. Die Muskelteile wurden der linken unteren Glutealgegend entnommen. (Museum für Völkerkunde in Berlin, Prof. von den Steinen.)

18. Mumie Va 5804, in Baumolle gehüllt. Totenfeld von Ancon, Peru. (Reiss und Stübel, 1875, Nr. 2.) Weibliches Geschlecht, mittleres Alter, mageres Individuum. Muskulatur aus der Glutealgegend entnommen. (Museum für Völkerkunde in Berlin, Prof. von den Steinen.)

19. und 20. Mumien aus der früheren prähistorischen Zeit. Muskulatur, Blutader, Haut, gelbbraune Massen. Fundort Oberägypten. (Kairo, Prof. Schmidt.)

21. Mumie, ca. 250 v. Chr., grauweiße, lederartige Massen. Muskulatur.
22. Mumie, zirka 500 v. Chr., gelbbraune Massen. Muskulatur.
23. Mumie, zirka 600 v. Chr., braune Massen. Muskulatur.
24. Mumie, 400—500 v. Chr., braune Massen, zum Teil Knochen.
25. Mumie, 600 v. Chr., gelbbraune Massen. Muskulatur.
26. Mumie, 1000 v. Chr., gelbweiße, zum Teil braune Massen. Muskulatur.
27. Mumie, 750—950 v. Chr., braune Knochenreste.

Nr. 21—27 waren mir von Herrn Prof. v. Hansemann gütigst überlassen; das Material war von ihm noch nicht untersucht worden.

Von diesem Mumienmaterial, welches im allgemeinen eine faserige, tabakähnliche Beschaffenheit zeigte, wurde eine gewisse Menge fein zerzupft, zerschnitten und in einem Mörser zerstoßen. In ähnlicher Weise wurden auch Knochenteilchen behandelt. Hierauf wurde das fein zerkleinerte Material mit physiologischer Kochsalzlösung in einem sterilen Erlenmeyerschen Kölbchen verschieden lange Zeit ausgelaugt. In einzelnen Fällen war schon wenige Minuten nach dem Aufgießen der Kochsalzlösung eine deutliche strohgelbe Färbung derselben zu konstatieren, bisweilen färbte sich die Flüssigkeit gelbbraun bis schwarzbraun und zeigte einen eigentümlich aromatischen Geruch; in anderen Fällen blieb sie farblos. Beim Schütteln war häufig auch schon nach wenigen Minuten eine starke Schaumbildung zu konstatieren, die an Eiweißschaum erinnerte. Doch blieb dieser Schaum in den meisten Fällen im Gegensatz zum Eiweißschaum nur kurze Zeit stehen, um dann schnell zu verschwinden. Die Schaumbildung war wohl ebenso wie die Braunfärbung der Extrakte zum Teil durch harz-, respektive asphaltähnliche Massen bedingt, die

zur Konservierung der Mumien verwandt worden sind. Über die Zusammensetzung dieser Imprägnierungsstoffe ist, soviel wir feststellen konnten, Sicheres nicht bekannt. Aber auch bei den übrigen Mumien, welche nachweislich frei waren von einem derartig konservierenden Zusatz, färbte sich die ausgelaugte Flüssigkeit gelblich und zeigte beim Schütteln eine mehr oder weniger starke Schaumbildung. Die Auslaugung wurde eine lange Zeit fortgesetzt, und dementsprechend wurden die Untersuchungen der ausgelaugten Flüssigkeiten nach 24 Stunden, 2, 4, 6, 8—14 Tagen, 3 und 4 Wochen vorgenommen. Zu diesem Zwecke wurde die Flüssigkeit absolut klar filtriert und, falls der Farbenton zu dunkel war, mit Kochsalzlösung weiter verdünnt. Sodann wurde die Reaktion mit Lackmuspapier geprüft. Dabei zeigte es sich, daß sie in vielen Fällen sehr stark sauer war, so daß die Flüssigkeiten in diesem Zustande für die biologische Untersuchung nicht zu brauchen waren. Denn es stellte sich heraus, daß schon beim Hinzufügen von normalem Kaninchenserum nach wenigen Augenblicken eine starke, durch die Säure hervorgerufene Eiweißtrübung auftrat, die sich, indem sich das alkalische Serum nach dem Zutropfen zu Boden senkte, zuerst an den oberen Schichten der Flüssigkeit entwickelte. Es war daher notwendig, diese Flüssigkeiten zunächst mit Sodalösung oder Natronlauge zu neutralisieren. Welcher Art diese „Mumiensäure" ist, hat sich noch nicht mit aller Sicherheit feststellen lassen. Vielleicht handelt es sich um Fettsäuren (s. unten W. A. Schmidt). Sie kann begreiflicherweise zu Täuschungen Veranlassung geben.

Die Flüssigkeiten blieben beim Kochen und Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure in vielen Fällen absolut klar; in anderen Fällen zeigte sich eine leichte Trübung, die aber wohl nicht mit Sicherheit als Eiweißtrübung aufzufassen ist. Bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd zu den Mumienextrakten war häufig eine Katalyse (starke Schaumbildung) zu beobachten.

Trotz der zweifelhaften chemischen Eiweißproben, die, wie wir früher bereits öfter betont haben, allerdings über einer Verdünnung der Eiweißlösung von 1:1000 in der Regel versagen, wurde die außerordentlich viel feinere biologische Reaktion angeschlossen, und zwar mit einem sehr hochwertigen Serum, welches in 1:20000 verdünnten Menschenblutlösungen nach 5 Minuten eine starke Trübung hervorrief. Es entsprach dieses Serum also vollkommen dem von Uhlenhuth für die forensische Blutuntersuchung verlangten Titer. Zu 1,0 ccm des Mumienextraktes wurde 0,1 ccm dieses hochwirksamen Serums hinzugesetzt. Sodann wurden die Röhrchen längere Zeit heobachtet. In keinem einzigen Falle war selbst nach mehrstündiger Beobachtung eine positive Reaktion zu verzeichnen, sowohl bei den aus den Weichteilen als auch bei den aus den Knochen ausgelaugten Flüssigkeiten.

Sehr eingehende Untersuchungen sind, wie bereits oben erwähnt, weiterhin von W. A. Schmidt angestellt. Er war in der Lage mit Hilfe chemischer Methoden festzustellen, daß nicht nur in Mumien der historischen Zeiten, sondern sogar in ältesten uns bekannten, nicht einbalsamierten Mumien der sogenannten frühen prähistorischen Periode noch mitunter Eiweißstoffe vorhanden sind. Es handelt sich in der Hauptsache um albumosenartige Stoffe; aus der Salpetersäureprobe ging aber hervor, daß wahrscheinlich auch noch Spuren von nativem Eiweiß vorhanden sind. Schmidt konstatierte das zuerst an einigen Sehnen von Mumien der XXI. Dynastie. Ein mit phys. Na-Cl-Lösung hergestellter Extrakt ergab eine stark schäumende, ziemlich klare saure Lösung, die

die Biuretreaktion zeigte; auch andere Mumien ergaben ein ähnliches Resultat, die Biuretreaktion gelang sogar mit den Sehnen einer Mumie der frühen prähistorischen Zeit (ca. 6000 Jahre alt).

Auch in der Haut, Muskulatur sowie in den Blutvenen, der Lunge (Koptenmumien) und Milz konnte noch Eiweiß chemisch mittels der Biuretreaktion nachgewiesen werden. Auch die Millonsche und Molischsche Probe gelang. Wenn diese Reaktionen für Eiweiß auch weniger charakteristisch sind, so ist ihr positiver Ausfall zusammen mit der Biuretprobe immerhin von Bedeutung. Es konnten ferner feste und flüssige Fettsäuren, Cholestearin und Spuren von intaktem Fett, aber kein Hämoglobin (trotz der gegenteiligen Angabe von Lacassagne) nachgewiesen werden.

Schmidt verwendete nun zu seinen Untersuchungen Mumien, in denen er chemisch Eiweiß nachgewiesen hatte:

1. Koptisches Material (ca. 500 v. Chr.), Haut, Muskulatur, Blutgefäße, Lunge.
2. XXVI. Dynastie (ca. 600 v. Chr.), Haut, Muskulatur, Blutgefäße, Sehnen.
3. XXI. Dynastie (ca. 950 v. Chr.), Haut, Muskulatur, Blutgefäße, Sehnen, Knorpel, Organ (wahrscheinlich Milz).
4. XVII. Dynastie (ca. 1600 v. Chr.), Haut, Muskulatur, Blutklumpen.

Um neutrale oder schwach alkalische Lösungen zu bekommen und eine nachherige Neutralisation zu umgehen, hat Schmidt das Mumieneiweiß zur Entfernung der Fettsäure im Soxleth-Apparat mit bei 30 bis 40° siedenden Petroläther extrahiert. Der Rückstand wurde zerkleinert und mit phys. Na-Cl-Lösung ausgezogen. Es wurden ebenfalls Auszüge mit 0,1 %iger Sodalösung hergestellt. Untersucht wurden diese Auszüge nach 2stündiger bis 20tägiger Einwirkung der Lösungsmittel. Die Lösungen wurden durch Papier, dann durch Berkefeldsche Kerzen filtriert. Die Kochsalzauszüge waren am klarsten. Sämtliche Lösungen gaben die Biuretreaktion und zeigten beim Schütteln starke Schaumbildung. Diese Mumieneiweißlösungen wurden nun mit Hilfe der Präzipitinreaktion untersucht, nachdem sie durch Schütteln mit überschüssigem Magnesiumoxyd — und nachherige Filtration (Berkefeld) — schwach alkalisch gemacht waren. In keinem Falle war die Reaktion positiv. Wohl aber war nach einigen Stunden häufig eine schwache Trübung und auch ein Niederschlag zu bemerken; dasselbe war aber auch bei den angestellten Kontrollen (Mumieneiweißlösung — normales Serum) zu konstatieren. Selbst ohne Serumzusatz trübten sich diese (sterilen) Lösungen mitunter schon nach wenigen Stunden auch im Eisschranke. Sie wurden daher stets sofort nach der Filtration untersucht. Die trotz Ätherextraktion häufig noch sauren Kochsalzauszüge bzw. die Lösungen der mit Petroläther nicht extrahierten Eiweißstoffe ergaben teilweise sofort eine Trübung nach Zusatz des Antiserums. Dieselbe Erscheinung trat aber auch nach Zusatz von beliebigem normalem Serum ein. Die Reaktion beruhte also nur auf der Wirkung der Säure, worauf schon Uhlenhuth aufmerksam gemacht hatte.

Auch mit hochwertigem Serum von Kaninchen, das durch Einspritzung von blutfreien Menschenmuskeln hergestellt war, konnte Schmidt kein positives Resultat erzielen. Nach seiner Ansicht handelt es sich bei den Mumien hauptsächlich um albumoseartige Eiweißkörper, die daher auch die Präzipitinreaktion nicht geben. Die Spuren von echten koagu-

lierbaren Eiweißstoffen haben seiner Ansicht nach ihre Spezifität verloren, woran vielleicht der beträchtliche Gehalt an Fettsäuren schuld ist.

Ob es gelingt mit Mumieneiweißantiseris die biologische Reaktion zu erhalten, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten werden.

Während somit bei mehrtausendjährigem Material die Herkunft auf biologischem Wege nicht zu ermitteln war, erzielte UHLENHUTH positive Resultate bei Mumien jüngeren Alters. Es erstrecken sich diese Untersuchungen auf folgende Präparate:

1. Trockene Gangrän des Unterschenkels, über 10 Jahre alt. (Pathologisches Institut München: Prof. v. BOLLINGER.)
2. Trockener Brand der unteren Extremität, ca. 10 Jahre alt. (Pathologisches Institut Erlangen: Prof. HAUSER.)
3. Stück von einem Kalbsfötus. (Pathologisches Institut Erlangen: Prof. HAUSER.)
4. Kalbsfötus, über 10 Jahre alt. (Pathologisches Institut München: Prof. v. BOLLINGER.)
5. Plazenta — Kuh, 20 Jahre alt. (Pathologisches Institut München: Prof. v. BOLLINGER.)
6. Mumifizierter Fuß. Frostgangrän, seit 1856 in dem Pathologischen Institut Greifswald: Geh.-Rat GRAWITZ.
7. Fünf Zehen im Lisfrankschen Gelenk abgetrennt. Die Zehen stammen von einem Knaben, dem sie erfroren und abgenommen sind. Seit dem Jahre 1838 im Patholog. Institut Greifswald: Geh.-Rat GRAWITZ.

Von sämtlichen Präparaten wurde das Weichteilmaterial in derselben Weise, wie oben beschrieben, zerkleinert und ausgelaugt. Die ausgelaugten Flüssigkeiten — die neutral bis schwachsauer reagierten — zeigten durchweg beim Kochen und Zusatz von Salpetersäure deutliche Eiweißreaktion. Die biologische Reaktion wurde in der von UHLENHUTH vorgeschlagenen Weise angestellt, und zwar wurde zu 2,0 ccm einer etwa 1:1000 entsprechenden Organextraktlösung 0,1 ccm hochwertiges Antiserum zugesetzt. In allen Fällen war die Reaktion wenige Minuten nach dem Serumzusatz so deutlich, daß ein Zweifel an ihrem positiven Ausfall gar nicht aufkommen konnte, und zwar sowohl bei Untersuchung des vom Menschen wie auch des vom Rinde stammenden Materials.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß es bei mumifizierten Organen jüngeren Datums (in einem Falle bis 66 Jahre) mit Sicherheit gelungen ist, ihre Herkunft mittels der biologischen Methode zu bestimmen, während das bei 27 mehrtausendjährigen Mumien nicht möglich war.

Wir stehen daher auf dem Standpunkte, daß es im allgemeinen nicht gelingt, die Herkunft eines mehrtausendjährigen Mumienmaterials mittels der Präzipitinreaktion zu bestimmen. Zweifellos setzt wohl die durch die Jahrtausende in Folge irgend welcher Einflüsse hervorgerufene Veränderung der Eiweißsubstanzen der Leistungsfähigkeit der biologischen Reaktion eine natürliche Grenze. Ob und inwieweit diese Eiweißsubstanzen durch das sog. „Balsamieren" verändert sind, läßt sich nicht ohne weiteres entscheiden, zumal, wie oben bereits angedeutet, unsere Kenntnisse über die Art dieser Einbalsamierung noch recht mangelhaft sind.

Der Name Mumie stammt bekanntlich von einem arabischen Worte „mumiya" ab, das vier Arten von Asphalt bezeichnet, namentlich die sog. „Gräbermumie", eine erdharzige Masse, mit welcher die in den alten

ägyptischen Gräbern enthaltenen Leichen teils umgeben, teils in ihren großen Körperhöhlen angefüllt wurden.

Unter unseren Mumien befinden sich nun solche, die eine völlig farblose Extraktionsflüssigkeit lieferten, im Gegensatz zu andern, die ein gelbes bis braunes Extrakt ergaben. Die ersteren dürften mit derartigen konservierenden Stoffen nicht imprägniert gewesen sein, zumal da sie, wie bestimmt angegeben wurde, aus der früheren prähistorischen Periode stammten, in welcher man derartige Konservierungsmethoden noch nicht kannte. Trotzdem verhielten sich beide Flüssigkeiten bezüglich ihrer biologischen Reaktionsfähigkeit völlig gleich, d. h. sie lieferten ein negatives Ergebnis.

Uns scheint es nunmehr vor allen Dingen wünschenswert, Mumien zu untersuchen, die 100 und mehrere hundert Jahre alt sind, um festzustellen, wo die Grenze liegt, bei der die Eiweißsubstanzen noch reaktionsfähig sind. In einem Falle konnte allerdings Uhlenhuth auch bei einer 300jährigen Mumie kein positives Resultat mehr erzielen.

Wohl gelang es neuerdings aber Uhlenhuth und Haendel mit Hilfe der Anaphylaxiereaktion bei mehreren 1000jährigen alten Mumien den Nachweis der menschlichen Herkunft zu erbringen.

Es soll daher im Folgenden auf die schon mehrfach erwähnte Anaphylaxiereaktion näher eingegangen und ihre praktische Bedeutung beleuchtet werden.

Verwertung der Anaphylaxiereaktion für die biologische Eiweißdifferenzierung.

(Bearbeitet von Uhlenhuth und Haendel)

Es handelt sich bei der Anaphylaxie- oder Überempfindlichkeitsreaktion um ein biologisches Phänomen, welches erst im Laufe der letzten Jahre näher erkannt und erforscht wurde. Da dasselbe auch für die biologische Eiweißdifferenzierung Bedeutung hat und seine praktische Verwertung während der Drucklegung dieses Buches vorgeschlagen worden ist, so ist ein kurzes Eingehen auch auf diese biologische Methode erforderlich.

Wie die Forschung der letzten Jahre gezeigt hat, tritt im Tierkörper auf die parenterale Einführung körperfremder tierischer oder pflanzlicher (bakterieller) Eiweißsubstanzen nach Verlauf einer bestimmten Zeit, deren Dauer je nach der Applikationsweise und der Größe der eingeführten Eiweißmengen verschieden ist, eine Zustandsänderung ein, die sich darin äußert, daß die vorbehandelten Tiere auf eine weitere Injektion desselben Eiweißes nunmehr mit ganz charakteristischen, meist stürmisch einsetzenden und häufig rasch zum Tode führenden Krankheitserscheinungen reagieren.

Diese Zustandsänderung bezeichnet man als Überempfindlichkeit oder nach dem Vorschlage von Richet als Anaphylaxie*).

Man unterscheidet aktive und passive Anaphylaxie.

Wie Otto nämlich gezeigt hat, gelingt es, die von den Tieren infolge der Vorbehandlung mit einer Eiweißsubstanz erworbene Zustandsänderung (aktive Anaphylaxie), durch eine einmalige Injektion von 1—3 ccm des Serums von solchen aktiv überempfindlichen Tieren passiv auf andere normale Individuen derselben oder auch einer anderen Tierart zu übertragen (passive Anaphylaxie). Die passive Überempfindlichkeit tritt nicht sofort nach der Einspritzung des anaphylaktischen Serums, sondern im allgemeinen erst 24 Stunden nach der Injektion auf.

Passiv anaphylaktisierte Tiere reagieren dann aber auf die Einspritzung der entsprechenden Eiweißsubstanz in derselben charakteristischen Weise wie aktiv überempfindliche Tiere.

Die Dauer der passiven Anaphylaxie ist beschränkt; handelt es sich um Übertragung bei verschiedenen Tierarten, so ist sie kürzer als bei Übertragung in derselben Tierspezies.

Dagegen besteht der aktiv erworbene anaphylaktische Zustand sehr lange und wird auch auf die Nachkommen vererbt.

Anaphylaktische Tiere, welche nach der erneuten (Prüfungs-) Injektion des entsprechenden Eiweißes zwar charakteristisch erkrankt waren, aber überleben, erweisen sich einer ferneren Einspritzung auch großer Dosen desselben Eiweißes gegenüber zunächst refraktär.

Man nennt diesen refraktären Zustand nach Besredka Antianaphylaxie. Es handelt sich aber bei dieser Erscheinung nicht um eine eigentliche Immunität, sondern dieser Zustand, welcher allerdings mehrere

*) Richet prägte für diese gesteigerte Empfindlichkeit den Namen Anaphylaxie im Gegensatz zu der sonst im allgemeinen durch Vorbehandlung mit Antigenen erreichten Schutzwirkung oder Prophylaxie.

Wochen anhalten kann, schwindet allmählich wieder. Die Tiere sind dann bei einer neuen Prüfung wieder eben so überempfindlich für das entsprechende Eiweiß wie zuvor.

Über das Wesen und das Zustandekommen der Anaphylaxiereaktion sind unsere Ansichten noch keineswegs geklärt, es stehen sich zurzeit noch die verschiedensten Auffassungen gegenüber. Auf die einzelnen Theorien über das Zustandekommen des Überempfindlichkeitsphänomens kann hier nicht näher eingegangen werden, sondern es muß auf die verschiedenen erschienenen ausführlichen Übersichten über Anaphylaxie verwiesen werden. Auch sonst konnten — da hier nur die praktische Verwertbarkeit der Reaktion besprochen werden soll — von der umfangreichen, die Anaphylaxie behandelnden Literatur hauptsächlich nur die Arbeiten näher berücksichtigt werden, welche sich speziell mit ihrer praktischen Anwendung befassen.

Drei Tatsachen beanspruchen jedenfalls bei der Reaktion unser besonderes Interesse und geben ihr eine besondere Bedeutung.

Einmal ist dies die schon von Arthus gemachte Beobachtung, daß dem Phänomen eine bestimmte Spezifität zukommt, d. h. daß die mit einer Eiweißsubstanz vorbehandelten Tiere im allgemeinen nur dann in typischer Weise mit den charakteristischen Krankheitserscheinungen auf die erneute Einspritzung reagieren, wenn dazu derselbe Eiweißkörper wie bei der Vorbehandlung benutzt worden war. Je nach dem Eintreten oder Ausbleiben der typischen Symptome bei den benutzten Tieren kann man dann auf die Identität oder Verschiedenheit der bei beiden Injektionen verwendeten Eiweißsubstanzen schließen. Zweitens kommt in Betracht, daß zur Auslösung der erwähnten Zustandsänderung bei den behandelten Tieren auch schon die Benutzung minimalster Eiweißspuren (Rosenau und Anderson) bei der ersten Injektion genügt und drittens, daß es auch gelingt, mit zum Teil denaturiertem, mit erhitztem Eiweiß (Rosenau und Anderson, Besredka, Kraus und Volk, Uhlenhuth und Haendel, Pick und Yamanouchi) Tiere für die Nachbehandlung mit dem entsprechenden nativen Eiweiß überempfindlich zu machen.

Diese drei Tatsachen legten den Gedanken nahe, die Reaktion praktisch für die Identifizierung und Differenzierung von Eiweißsubstanzen zu verwerten.

Uhlenhuth hat zuerst auf Grund bezüglicher, in Gemeinschaft mit Haendel angestellter Versuche auf die allgemeine Bedeutung der Reaktion für praktische Zwecke, speziell auch für die forensische Praxis zur Differenzierung von Blut- und Fleischsorten usf. hingewiesen, zugleich dabei aber auch auf ihre Nachteile aufmerksam gemacht. Wir werden auf diese Versuche unten näher eingehen.

Den Gedanken einer praktischen Verwertung der Reaktion haben ferner H. Pfeiffer, Thomsen und Sleeswigk bei ihren Untersuchungen verfolgt.

Die praktische Anwendung der Reaktion ist jedoch bisher nur auf einzelne Versuche beschränkt geblieben; allgemeine Anwendung hat die Reaktion in der Praxis noch nicht gefunden.

In den bisher erschienenen allgemeinen Übersichten (Doerr, Otto, Besredka, Levaditi) über die Anaphylaxie finden sich in dieser Hinsicht daher auch noch keine näheren Angaben.

Sleeswigk, H. Pfeiffer und Thomsen haben die Reaktion zunächst nur in forensischer Hinsicht zur Unterscheidung von Blutarten zu verwerten versucht.

Thomsen gelang es mit Hilfe der Reaktion 2—3 Monate alte, an Leinwandstücke angetrocknete Blutflecke von Menschen-, Affen-, Hühner-, Tauben-, Schaf- und Ziegenblut jeweils bezüglich ihrer Herkunft zu identifizieren.

H. Pfeiffer hat zwar bei seinen Versuchen, die Anaphylaxiereaktion zur Differenzierung von Eiweißarten für die forensische Praxis zu verwerten, bei der von ihm angewandten Versuchsanordnung die charakteristischen Krankheitserscheinungen in deutlich sichtbarer Weise nicht auszulösen vermocht, konnte aber bei den Meerschweinchen, bei welchen zur sensibilisierenden und zu der Prüfungsinjektion das entsprechende Serum benutzt worden war, ein konstantes Sinken der Körpertemperatur feststellen, welches bei Anwendung heterologer Sera nicht eintrat.

Uhlenhuth und Haendel dagegen haben die Reaktion außer in forensischer Hinsicht auch zu weiteren praktischen Versuchen nach den verschiedensten Richtungen herangezogen, speziell in solchen Fällen, in denen die Anwendung der viel einfacher und exakter arbeitenden Präzipitinmethode erschwert oder unmöglich war.

So suchten sie dieselbe außer beim forensischen Blutnachweis auch zu verwerten zur Differenzierung verwandter Blutarten, sowie zur Untersuchung von Mumien, von gekochten Fleischsorten, von rohen Ölen, Fetten, Nährpräparaten und Futtermitteln, von Se- und Exkreten auf Eiweißspuren, sowie zur Differenzierung verschiedener Organeiweiße desselben Organismus.

Auch bezüglich ihres Verhaltens gegenüber dem Linseneiweiß der verschiedenen Tierarten wurde die Reaktion von Uhlenhuth und Andrejew, sowie von Kraus, Doerr und Sohma geprüft.

Es zeigte sich, daß eine Unterscheidung der verwandten Blutarten von Mensch und Affe, Esel und Pferd, Ziege und Hammel, deren Differenzierung mit der Präzipitation nicht gelang, auch mit der Anaphylaxiereaktion nicht möglich war. Die mit Menschenserum vorbehandelten Meerschweinchen reagierten bei der Prüfung mit Menschen- und Affenserum in gleicher Weise und umgekehrt. Ebenso gestalteten sich die Verhältnisse bei den Differenzierungsversuchen der anderen verwandten Blutarten. Bemerkenswert ist, daß mit der Anaphylaxiereaktion auch eine Differenzierung von Mäuse- und Rattenblut (Trommsdorff) nicht gelang, während sich nach den Feststellungen von Uhlenhuth und Weidanz, sowie von Trommsdorff diese beiden Blutarten mittels der Präzipitinreaktion ohne weiteres unterscheiden lassen. Dagegen werden Meerschweinchen gegen Kaninchenserum überempfindlich, während bekanntlich Bordet von Kaninchen keine Meerschweincheneiweiß präzipitierende Sera gewinnen konnte.

Ebenso lieferte im Gegensatz zu dem von Uhlenhuth bei der Untersuchung ägyptischer Mumien mit der Präzipitation erhaltenen negativen Resultat, die Anaphylaxiereaktion in einigen Fällen positive Ergebnisse. Meerschweinchen, die mit Extrakten von Mumien der XXI. (950 v. Chr.) und XXVI. (600 v. Chr.) Dynastie sowie von einer koptischen Mumie vorbehandelt waren, reagierten beim Nachspritzen mit Menschenserum (1,0 ccm intrakardial) mit deutlichen anaphylaktischen Symptomen.

Die Untersuchung mehrerer anderer ägyptischer Mumien, über deren Herkunft nichts Sicheres bekannt war, hatte dagegen ein negatives Resultat.

Ferner gelang es Uhlenhuth und Haendel Meerschweinchen überempfindlich zu machen mit Extrakt aus einer ca. 30 Jahre alten

Kuhplazenta, mit Extrakt von einem vor ca. 14 Jahren operierten Stück einer Zehe, mit Extrakt aus einem Frostgangränstück aus dem Jahre 1856, ferner mit Extrakten von Blutflecken, die mehrere Jahre alt waren, darunter auch von einem an Papier angetrockneten Fleck von Schimpansenblut, sowie schließlich mit 14 Jahre altem, völlig verfaultem Menschenblut, das lange dem Sonnenlicht ausgesetzt war. Bei dem letzteren war mit der Präzipitinreaktion kein Ergebnis zu erzielen.

Bei gekochtem Pferdefleisch, bei gekochter Leber- und Blutwurst, bei gekochtem Schellfischfleisch ließ sich die Herkunft des Eiweißes bei Prüfung der sensibilisierten Tiere durch intrakardiale Einspritzung der entsprechenden normalen Sera bzw. eines Extraktes von frischem Schellfischfleisch erweisen.

Bei den mit Extrakten von gekochtem Pferdefleisch und von gekochten Würsten sensibilisierten Tieren machte sich bei der Nachprüfung mit heterologen Seris ein leichtes Übergreifen bemerkbar, während die mit Schellfischextrakt vorbehandelten Tiere das Nachspritzen mit Extrakt von Hechtfleisch reaktionslos vertrugen. Die Herkunft der gekochten Fleisch- und Wurstsorten war mit der Präzipitinreaktion nicht zu bestimmen.

Meerschweinchen, welche mit rohem Leinöl, mit dem im Handel käuflichen Rizin und mit Kokosbutter vorbehandelt waren, erwiesen sich bei Nachimpfung von Extrakten aus Leinsamen, Rizinussamen bzw. Kokoskernen als überempfindlich.

Von besonderer Bedeutung für die Beurteilung der Verwertbarkeit der Reaktion in forensischer Hinsicht, worauf nachher noch zurückzukommen sein wird, ist aber die Beobachtung, daß auch mit normalem, nicht nachweislich eiweißhaltigem menschlichem Urin vorbehandelte Meerschweinchen bei Nachprüfung mit menschlichem Serum, nicht aber bei Nachprüfung mit Urin positiv reagierten.

Mit Magensaft eines Magenkarzinomkranken sensibilisierte Tiere gaben ebenfalls bei Nachbehandlung mit menschlichem Serum positive Reaktion, dagegen gelang bei einigen mit Sputum vorbehandelten Meerschweinchen bei Prüfung mit menschlichem Serum die Auslösung anaphylaktischer Symptome nicht.

Zu eigenartigen Ergebnissen führten Versuche, verschiedene Organeiweiße desselben Organismus mit Hilfe der Anaphylaxiereaktion zu differenzieren.

So ergab sich, im Gegensatz zu der Angabe Besredkas, daß mit Rinderserum vorbehandelte Meerschweinchen sowohl anaphylaktisch reagierten, wenn sie mit Rinderserum wie wenn sie mit Milch nachbehandelt wurden.

Man könnte hier zunächst ein Übergreifen der Reaktion annehmen; so einfach scheinen die Dinge jedoch nicht zu liegen. Wäre dies richtig, so müßte ein mit Rinderserum vorbehandeltes Meerschweinchen, wenn es infolge der Prüfung mit Milch schwere anaphylaktische Erscheinungen überstanden hat, antianaphylaktisch geworden sein und sich in den nächsten Tagen gegenüber einer neuen Injektion von Rinderserum refraktär verhalten. Das ist aber nicht der Fall, denn mit Milch sensibilisierte und bei Prüfung mit gekochter Milch schwer erkrankt gewesene Tiere zeigten nach 48 Stunden bei einer neuen Prüfung mit Rinderserum ebenfalls wieder schwere anaphylaktische Symptome. Ähnlich gestalteten sich auch die Verhältnisse bei der wechselseitigen Prüfung von Meerschweinchen, welche mit verschiedenen Eiweißarten des Huhnes (Dotter, Eiklar, Serum, Hämoglobin) vorbehandelt waren. Man könnte diese Beobachtung zunächst so erklären, daß die zur ersten Prüfungsinjektion

benutzte Eiweißmenge zur Auslösung typischer Erscheinungen genügte, aber nicht ausreichte, um die Tiere in einen antianaphylaktischen Zustand gegenüber einer weiteren Prüfungsinjektion zu versetzen.

Man muß aber andererseits eventuell doch auch daran denken, daß einmal in der Kuhmilch und im Rinderserum, ferner im Eiklar, Eidotter und Hühnerserum gleichzeitig verschiedene Eiweißkörper vorhanden sind.

Weitere Untersuchungen müssen in dieser Frage noch Klarheit bringen.

Die auf Uhlenhuths Veranlassung von Andrejew angestellten Versuche mit Linseneiweiß verschiedener Tiere ergaben, daß die Verhältnisse bei der anaphylaktischen Reaktion genau ebenso liegen, wie sie von Uhlenhuth mittels der Präzipitinreaktion festgestellt waren.

Bei entsprechenden Untersuchungen an Kaninchen kamen Kraus, Doerr und Sohma zu denselben Ergebnissen. Uhlenhuth und Andrejew haben selbst bei mit Meerschweinchenlinsen sensibilisierten Meerschweinchen bei Nachspritzung von Meerschweinchenlinseneiweiß positive Reaktionen erhalten. Ja es gelang sogar, Meerschweinchen mit dem Eiweiß der Linse ihres einen Auges zu sensibilisieren und durch Nachbehandlung mit dem Linseneiweiß des anderen Auges bei den Tieren anaphylaktische Symptome auszulösen (Autoanaphylaxie) (Uhlenhuth und Haendel).

Ausführung der Anaphylaxiereaktion.

Das für die Ausführung der Anaphylaxiereaktion geeignetste Versuchstier ist das Meerschweinchen. In zweiter Linie steht das Kaninchen. Die bisher für praktische Zwecke ausgeführten Anaphylaxieversuche sind fast ausnahmslos mit Meerschweinchen angestellt worden.

Es kann nicht bei allen Tierarten Anaphylaxie erzeugt werden. Hühner*) (Uhlenhuth und Haendel), Ratten**) (Uhlenhuth und Haendel) und Mäuse (Doerr, Uhlenhuth, Haendel, Trommsdorff), z. B. werden anscheinend überhaupt nicht überempfindlich. Auch unter den Meerschweinchen spielt die individuelle Disposition und die Rassenverschiedenheit eine große Rolle. Es werden nicht alle Meerschweinchen in gleichem Grade anaphylaktisch. Man muß daher für jede Überempfindlichkeitsprüfung immer eine Reihe von Tieren vorbehandeln und zur Prüfung heranziehen.

Was nun die Ausführung der Anaphylaxiereaktion selbst anbelangt, so zerfällt sie, wie aus den vorstehenden Ausführungen schon hervorgeht, in zwei Teile:

1. die Vorbehandlung, d. h. die Sensibilisierung der Meerschweinchen;
2. Prüfung der Tiere zum Nachweis des Bestehens etwaiger Anaphylaxie durch eine erneute Einspritzung.

Vorbehandlung.

Die Sensibilisierung der Tiere kann durch subkutane, intraperitoneale oder intravenöse und intrakardiale Injektion erfolgen.

Die Ausführung der intravenösen und intrakardialen Injektion erfordert besondere technische Übung. In der Regel wird man aber mit

*) Diese Angabe bezieht sich bezüglich der Hühner nur auf die Behandlung mit Säugetier(Pferde)-Serum.

**) Nach Arthus werden auch Ratten überempfindlich.

dem subkutanen Verfahren zur Sensibilisierung auskommen, und zwar wird im allgemeinen, wenn die fragliche Eiweißlösung nicht gar zu geringe Mengen von Eiweiß enthält, eine einmalige subkutane Injektion von 1 ccm genügen. Wenn jedoch anzunehmen ist, daß die zu prüfende Lösung nur minimale Spuren des fraglichen Eiweißes (etwa erheblich unter 0,001 ccm) enthält oder Eiweiß in ihr auch mit der Präzipitation nicht mehr nachzuweisen ist, so empfiehlt es sich, die Tiere dreimal je einen über den anderen Tag mit je 1 ccm der Lösung subkutan zu spritzen. Größere Eiweißmengen, als etwa 1 ccm reinen Serums entsprechen, zur Sensibilisierung zu verwenden, ist nicht zweckmäßig. Es wird dadurch der Eintritt des anaphylaktischen Zustandes erheblich verzögert (Otto). Wie erwähnt, ist für jeden Versuch eine größere Reihe von Tieren anzusetzen und in der gleichen Weise zu sensibilisieren, da je nach der Disposition sich bei den einzelnen Tieren ein stärkerer oder schwächerer Grad der Anaphylaxie ausbilden und unter Umständen auch ein Tier einmal ganz ausfallen kann. Es ist daher für die Sicherheit des Prüfungsergebnisses notwendig, später nicht nur an einem, sondern an mehreren in gleicher Weise sensibilisierten Tieren die Prüfung auf Anaphylaxie vornehmen zu können. Ferner müssen auch bei der Prüfung einige vorbehandelte Tiere als Kontrollen zur Nachbehandlung mit verschiedenen heterologen Eiweißlösungen zur Verfügung stehen. Wegen der langen Dauer der aktiven Anaphylaxie und der Vererbung derselben sind zur Vermeidung etwaiger Fehlerquellen nur sicher ungebrauchte Tiere aus bekannter Zucht zu verwenden.

Die Herstellung der Extraktlösungen für die Injektionen zur Sensibilisierung erfolgt im allgemeinen am zweckmäßigsten (auch bei gekochtem Fleisch) in derselben Weise, wie sie vorstehend zur Ausführung der Präzipitationsmethode angegeben war. Doch empfiehlt sich im allgemeinen, namentlich bei gekochtem Fleisch, die Extraktion in möglichst konzentriertem Verhältnis (1 : 1) vorzunehmen und sie etwas länger auszudehnen. Da eine absolute Klarheit der Extraktlösungen nicht erforderlich ist, genügt in der Regel Filtration durch Papierfilter. Sind die Lösungen stärker eiweißhaltig, so genügt, wie erwähnt, zur Sensibilisierung die subkutane Injektion von 1 ccm des Extraktes. Enthalten die Lösungen aber nur Eiweißspuren oder ist überhaupt kein Eiweiß mehr nachzuweisen, dann werden die Tiere zweckmäßig, wie bereits angegeben, dreimal vorbehandelt. Von rohen Ölen und Fetten empfiehlt es sich dreimal je 1 ccm des Öles bzw. des durch Erwärmen flüssig gemachten Fettes subkutan einzuspritzen.

Die so vorbehandelten Tiere können nun erst nach Ablauf einer gewissen Zeit der Prüfung auf Überempfindlichkeit unterworfen werden.

Die Dauer des abzuwartenden Zeitraumes ist abhängig einmal von der Größe der zur Sensibilisierung benutzten Eiweißmenge, sodann auch von der Applikationsart der Sensibilisierungsinjektion. Je größer die zur Vorbehandlung angewandte Eiweißmenge war, um so länger dauert es im allgemeinen, bis der anaphylaktische Zustand bei den Tieren eingetreten ist. Bei der intravenösen oder intrakardialen Vorbehandlung tritt die Anaphxlaxie rascher ein als bei subkutaner. Auch die chemische Beschaffenheit des sensibilisierenden Eiweißkörpers ist von Einfluß auf die zum Eintritt der Überempfindlichkeit erforderliche Zeitdauer. Im allgemeinen empfiehlt es sich, die Prüfung frühestens 3—4 Wochen nach der Sensibilisierung vorzunehmen. Man kann selbst später noch nachprüfen, da nach den bisher vorliegenden Erfahrungen der anaphylaktische Zustand bei den Tieren, wenn er erst einmal ausgebildet ist, offenbar sehr lange besteht und eventuell selbst noch nach Jahren nachweisbar sein kann.

Prüfung.

Die Prüfung der Tiere erfolgt nach Ablauf der Sensibilisierungsperiode durch erneute Injektion einer möglichst konzentrierten Lösung des nativen Eiweißes, dessen Nachweis in Frage steht. Handelt es sich z. B. um den fraglichen Nachweis von Menschenblut, so wird zur Nachprüfung Menschenserum, zum Nachweis von Hühnerblut Hühnerserum, zum Nachweis von gekochtem Pferdefleisch Pferdeserum, zum Nachweis eines (rohen) Pflanzenöles- oder -fettes ein möglichst konzentrierter Extrakt aus den zur Herstellung des Öls oder Fettes benutzten Pflanzenfrüchten oder Samen verwandt. Während nun bei der ersten Injektion zur Sensibilisierung minimale Eiweißspuren genügten, kommt es bei der Nachbehandlung, bei der Prüfungsinjektion darauf an, den Tierkörper mit einer im Verhältnis zur ersten Injektionsdosis erheblich größeren Eiweißmenge möglichst rasch zu überschwemmen. Eine je größere Eiweißmenge rasch in die Blutbahn des Tieres gelangt, um so schwerer und deutlicher treten die anaphylaktischen Symptome in die Erscheinung. Natürlich dürfen die Eiweißmengen aber nicht so groß gewählt werden, daß sie auch schon bei unbehandelten Tieren sichtliche Krankheitserscheinungen auslösen. Es sind daher bei allen Anaphylaxiereaktionen auch unbehandelte Tiere mit derselben Prüfungsinjektion in gleicher Weise zu spritzen wie die vorbehandelten Meerschweinchen als Kontrollen dafür, daß die Prüfungsdosis bei unbehandelten Tieren keine Erscheinungen auslöst.

Die Prüfungsinjektionen können nun ebenfalls wieder entweder subkutan oder intraperitoneal. intrakardial, intravenös oder in diesem Falle schließlich auch intracerebral (Besredka) erfolgen.

Da man aber möglichst deutliche und schwere Erscheinungen auslösen will, so ist die subkutane Applikationsweise, wegen der ungünstigeren Resorptionsverhältnisse für die Prüfungsinjektion, am wenigsten geeignet. Die cerebrale Injektion erfordert eine gewisse technische Fertigkeit, auch leidet sie ferner daran, daß man dabei nur verhältnismäßig kleine Injektionsmengen (0,25 ccm) bei der Nachspritzung anwenden kann. Am besten eignen sich für die Prüfung die intraperitoneale, die intravenöse und intrakardiale Injektion.

Bei der intraperitonealen Nachprüfung muß man aber natürlich ganz erheblich größere Eiweißmengen benutzen als bei der intravenösen oder intrakardialen Injektion, und trotzdem sind bei ihrer Anwendung die Erscheinungen infolge der allmählichen Resorption oftmals doch nicht so schwer und deutlich wie bei den beiden zuletzt genannten Verfahren.

Für die intraperitoneale Injektion sind jeweils 4—6 ccm reinen Serums oder dieselbe Menge einer Hühnereiweiß- oder Pflanzeneiweißlösung etwa 3:2 verdünnt, zu verwenden.

Für die intrakardiale oder intravenöse Injektion kann eventuell schon $^1/_{100}$ ccm Serum oder noch weniger genügen; man kann aber die Serummenge auch auf 1 ccm einer Serumverdünnung 1:20 oder 1:10 erhöhen, ja selbst, wenn es wünschenswert, 1 ccm und noch mehr reinen Serums geben.

Man wird sich daher zur Nachprüfung am zweckmäßigsten der intravenösen oder intrakardialen Injektion bedienen. Wir haben bei unseren Untersuchungen meist $^1/_4$—1 ccm reinen Serums und von Pflanzen-

eiweißlösungen 1 ccm (meist 1:4 bis 1:10 verdünnt) intrakardial gegeben.

Die intravenöse und intrakardiale Injektion beim Meerschweinchen erfordern einige Übung. Die erstere Methode wird namentlich von Doerr und Russ empfohlen; wir haben fast ausschließlich zur Prüfung die intrakardiale Applikationsweise angewandt, wie sie von Morgenroth für andere Zwecke angegeben worden ist. Die Meerschweinchen werden dabei von einem Diener so senkrecht (Kopf nach oben) gestreckt gehalten, daß ihre Brust- und Bauchseite frei nach vorn gerichtet ist. Man fühlt dann etwa eine halbe Fingerkuppe links oberhalb des Schwertfortsatzes den Herzschlag des Tieres und geht hier mit der Kanüle (ohne Spritze) vorsichtig so tief ein, bis aus dem Kanülenspritzenende das Blut heraustritt, was, je nachdem man in das linke oder rechte Herz gekommen ist, stoßweise oder langsam tropfenweise erfolgt. Dann setzt man die vorher gefüllte Spritze auf die im Herz steckende Kanüle und injiziert langsam, wartet einen Augenblick, nimmt dann die Spritze von der Kanüle ab und beobachtet, ob aus dieser wieder Blut heraustritt. Ist dies der Fall, so befindet sich die Kanülenspitze noch im Herzen und die Einspritzung war direkt in das Herz erfolgt. Die Tiere vertragen den Eingriff sehr gut; es ist nur peinlich darauf zu achten, daß keine Spur von Luft mit eingespritzt wird. Natürlich dürfen (z. B. bei Hühnereiweiß- und Pflanzeneiweißlösungen) keine zu dicken oder gröbere Partikelchen enthaltende Lösungen benutzt werden.

Bei der intrakardialen Injektion treten die typischen Erscheinungen sehr rasch auf, entweder sofort oder doch nach wenigen Sekunden oder Minuten, bei der intraperitonealen Injektion mitunter erst nach 10 bis 20 Minuten oder selbst noch später.

Der besonderen Wichtigkeit wegen sei hier nochmals darauf hingewiesen, daß bei allen Anaphylaxieprüfungen auch frische Meerschweinchen als Kontrollen mit der gleichen Eiweißdosis in derselben Weise zu spritzen sind, wie die vorbehandelten Tiere. Ebenfalls als Kontrollen sind ferner bei jeder Prüfung von den sensibilisierten Tieren einige statt mit einer Lösung des nachzuweisenden Eiweißes mit Eiweißlösungen anderer Art zu behandeln, um die Gewißheit zu erhalten, daß die sensibilisierten Tiere nicht auch auf die Nachspritzung von anderem Eiweiß reagieren.

Die zur Prüfungsinjektion benutzten Sera müssen inaktiviert ($^1/_2$ Stunde auf 60° erwärmt) sein und vor der Einspritzung auf 37° angewärmt werden. Das Inaktivieren ist notwendig, da die frischen Sera verschiedener Tierarten, wie Uhlenhuth u. a. nachgewiesen haben, schon in kleinen Dosen bei Meerschweinchen schwere, dem anaphylaktischen Krankheitsbilde ähnliche Vergiftungserscheinungen auslösen und so die Beurteilung etwaiger anaphylaktischer Erscheinungen erschweren oder selbst unmöglich machen können. Durch das Inaktivieren wird die Giftigkeit der Sera, wenn auch nicht in allen Fällen aufgehoben, so doch vermindert, ihre Anaphylaxie auslösende Wirkung aber nicht beeinträchtigt.

Durch die Anwärmung der Sera bzw. Eiweißlösungen auf 37° werden Shokwirkungen vermieden, welche bei intravenösen Einspritzungen von Flüssigkeitsmengen mit geringerer, als Körpertemperatur fast regelmäßig beobachtet werden und den Ablauf der Reaktion stören können.

Das anaphylaktische Krankheitsbild.

Was nun das durch die Prüfung bei den Meerschweinchen ausgelöste anaphylaktische Krankheitsbild anbelangt, so sind die Erscheinungen ganz charakteristisch. Die Tiere werden zunächst unruhig, kratzen und jucken sich, machen auffallende krampfartige Kau- und Würgbewegungen und lassen Urin und Kot abgehen. Der Leib ist prall gespannt, die Atmung ist beschleunigt und mühsam. Die Herztätigkeit wird äußerst schwach, die Temperatur sinkt. Es kommt dann zu allgemeinen Krampferscheinungen, die Tiere fallen um, werden häufig infolge der allgemeinen Krämpfe hin- und hergeworfen und gehen schließlich unter krampfartigen Zuckungen zugrunde. Die nach intraperitonealer oder intravenöser und intrakardialer Injektion auftretenden Krankheitssymptome unterscheiden sich nur insofern, als in den letzten beiden Fällen die Erscheinungen viel schneller einsetzen, stürmischer und schwerer verlaufen als bei der intraperitonealen Behandlung und häufiger zum Tode führen. Bei jeder Injektionsart können aber einzelne Tiere sich selbst nach den schwersten Erscheinungen mitunter auffallend rasch wieder vollkommen erholen.

Je nach der individuellen Disposition können auch bei dem einen oder dem anderen von mehreren ganz gleich vor- und nachbehandelten Tieren die Erscheinungen viel milder verlaufen, selbst ganz geringfügig sein, während die übrigen Tiere unter den charakteristischen schweren Erscheinungen zugrunde gehen.

Abgesehen von solchen individuellen Schwankungen sind im allgemeinen die Schwere und Deutlichkeit der Erscheinungen abhängig von der Art des zur Sensibilisierung verwandten Materials, von der Größe der Eiweißmenge und der Schnelligkeit ihrer Resorption bei der Prüfungsinjektion.

Bei der intrakardialen und wohl auch bei der intravenösen Injektion kann es in vereinzelten Fällen, wenn die Luft aus der Spritze nicht sorgfältig entfernt ist, auch einmal zum Auftreten einer Embolie kommen. Die Tiere fallen dann plötzlich um und zeigen krampfartige Zuckungen. Mitunter sterben dann die Tiere; häufig aber gehen diese Erscheinungen wieder rasch vorüber. Sie können bei einiger Übung nicht mit den typischen Anaphylaxiesymptomen verwechselt werden. Am sichersten schützt man sich aber auch hier dadurch vor einem etwaigen Irrtum, daß bei jedem Anaphylaxieversuch mehrere Tiere geprüft werden.

Passive Anaphylaxie.

Die passive Übertragung der Anaphylaxie geschieht in der Weise, daß frischen Meerschweinchen 1—3 ccm eines von einem anaphylaktischen Tier stammenden Serums subkutan, intraperitoneal oder intrakardial eingespritzt werden.

24 Stunden nach der Injektion kann dann die Prüfung der Tiere in derselben Weise vorgenommen werden, wie sie vorstehend beschrieben worden ist.

Auch der passiven Anaphylaxie kommt eine praktische Bedeutung zu.

Einmal kann sie zur Kontrolle und zur Bestätigung der mittels der aktiven Anaphylaxie erhaltenen Ergebnisse dienen. Ferner wird man

sich ihrer unter Umständen aber auch vorteilhaft zu diagnostischen Zwecken bei Menschen- und Tierkrankheiten bedienen können.

So hatte Otto vorgeschlagen, zur Orientierung, ob einzelne Menschen gegen bestimmte Serumarten überempfindlich sind, Meerschweinchen mit dem Serum derselben zu behandeln und nach 24 Stunden mit dem in Betracht kommenden Tierserum nachzuspritzen. Bestand bei den betr. Menschen Anaphylaxie gegen das Tierserum, so müßten die Meerschweinchen passiv anaphylaktisch werden und bei Prüfung mit dem Tierserum in der charakteristischen Weise reagieren.

Bei einzelnen, besonders chronischen Infektionskrankheiten kann sich eine spezifische Überempfindlichkeit den Erregern oder von diesen stammenden Stoffen gegenüber ausbilden. Läßt sich dieselbe durch passive Anaphylaxie, d. h. durch Behandeln von Meerschweinchen mit dem betr. kranken Serum und Prüfung dieser Tiere mit Extrakt aus den in Betracht kommenden Bakterien, nachweisen, so kann dadurch, falls die Tiere unter typischen Erscheinungen erkranken oder sterben, die Diagnose bestätigt oder überhaupt erst gesichert werden.

Dieses Verfahren ist bereits bei verschiedenen Infektionskrankheiten, so z. B. auch bei Tuberkulose (Yamanouchi) und weiterhin auch bei Tumoren (H. Pfeiffer) angewandt worden.

Es handelt sich aber hier bisher nur um einzelne Versuche; eine allgemeinere Verwertung hat auch die passive Anaphylaxie noch nicht gefunden.

Wie ist nun die Anaphylaxiereaktion bezüglich ihrer Verwertbarkeit für die Praxis zu beurteilen?

Gestatten die Ergebnisse der bisher vorliegenden praktischen Versuche überhaupt schon ein abschließendes Urteil und bietet die Reaktion in der Praxis gegenüber der Präzipitin- und der Komplementbindungsmethode etwa besondere Vorteile?

Diese Fragen lassen sich nach dem heutigen Stande unseres Wissens zunächst nur dahin beantworten, daß ein endgültiges Urteil über den praktischen Wert der Methode im allgemeinen zurzeit noch nicht gefällt werden kann.

Soviel allerdings läßt sich heute schon mit Sicherheit sagen, daß in allen den Fällen, in welchen die Präzipitinmethode anwendbar ist, auch die Anaphylaxiereaktion — wie dies auch von Thomsen betont wird — ebenso wie die Komplementbindungsmethode höchstens als Ergänzung und zur Kontrolle des Präzipitationsverfahrens mit herangezogen werden kann, daß aber das Ergebnis der Präzipitinreaktion immer als das ausschlaggebende anzusehen ist.

Bei solchen Untersuchungen, bei denen die Präzipitinreaktion und die Komplementbindungsmethode versagen oder überhaupt aus technischem Gründen nicht ausgeführt werden können. wird man dagegen unter Umständen, wie auch vorstehend ausgeführt ist, die Reaktion mit Vorteil anwenden können, so z. B. zur Untersuchung von Mumien, rohen Ölen, Fetten usw.

Auch für die Untersuchung von gekochten Fleischwaren, von Futtermitteln und von Nährpräparaten kann sie von Bedeutung werden.

Dagegen mahnen die Erfahrungen, die mit der Reaktion bei den Differenzierungsversuchen verschiedener Organeiweiße desselben Organismus gemacht wurden, sowie die Beobachtung, daß auch mit menschlichem Urin sensibilisierte Tiere bei der Prüfung mit menschlichem Serum positiv reagierten, zur allergrößten Vorsicht bezüglich der Anwendung der Reaktion für die forensische Blutuntersuchung.

Die Feinheit der Reaktion, wie sie hier zutage tritt, könnte bei der forensischen Blutuntersuchung, falls die zu untersuchenden Objekte mit Urin (oder Schweiß) behaftet sind — was nie mit Sicherheit auszuschließen sein wird — zu verhängnisvollen Fehlschlüssen und Irrtümern Veranlassung geben.

Schließlich wird die allgemeinere Anwendung der Reaktion in praktischer. speziell in forensischer Hinsicht auch noch von der Ausarbeitung einer genaueren quantitativen Untersuchungsmethodik, wie sie von Uhlenhuth für die Präzipitation ausgearbeitet worden ist, abhängig zu machen sein. Bisher haben nur Doerr und Russ genauere quantitave Anaphylaxieuntersuchungen vorgenommen.

Wir sind zurzeit mit Versuchen zur Ausarbeitung einer quantitativen Untersuchungsmethode speziell für die praktische Anwendung der Anaphylaxie beschäftigt.

Literatur über Anaphylaxie*).

Portier und Richet, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1902.
Otto, v. Leutholds Gedenkschrift 1906 und Münchner med. Wochenschr. 1907.
Besredka und Steinhardt, Ann. de l'Inst. Pasteur 1907.
Doerr, Wiener klin. Wochenschr. 1908.
Ders., Kraus und Levaditi, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung 1909, Bd. II.
Otto, Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikrorganismen 1908, Ergänz.-Bd. II, Heft 2.
Besredka, Bulletin de l'Inst. Pasteur, T. VI, 1908.
Levaditi, Weichardts Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforsch. 1908.
v. Pirquet und Schick, Die Serumkrankheit 1908.
Arthus, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1903.
Rosenau und Anderson, Bull. Hyg. Lab. Washington 1906; ebenda 1907 und Journ. of infect. diseases, Vol. V, Heft 1.
Besredka, Ann. de l'Inst. Pasteur 1908.
Kraus und Volk, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. I.
Pick und Yamanouchi, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. I.
Uhlenhuth, Deutsche militärärztl. Zeitschr. 1909, Nr. 2 und Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. I, Heft 6.
Pfeiffer, H., Wiener klin. Wochenschr. 1909.
Thomsen, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Heft 6.
Sleeswigk, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. II, Heft 1.
Uhlenhuth und Haendel, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie, 1909, Bd. III.
Andrejew, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXX.
Uhlenhuth und Weidanz, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXX.
Trommsdorff, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXXII.
Ranzi, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. II.
Kraus, Doerr und Sohma, Wiener klin. Wochenschr. 1908.
Kraus und Doerr, Centralbl. für Bakt. 1908, Orig. und Wiener klin. Wochenschr. 1908.
Doerr und Russ, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1909, Bd. II.
Yamanouchi, Wiener klin. Wochenschr. 1908.
Pfeiffer, H., Wiener klin. Wochenschr. 1909.

*) Der Übersichtlichkeit halber ist die Literatur über Anaphylaxie gleich hier angefügt.

Technik und Methodik der Serumgewinnung.

Da die Herstellung hochwirksamer präzipitierender Sera nach der übereinstimmenden Ansicht der meisten Autoren erhebliche technische Schwierigkeiten bereitet, so soll im folgenden eine genaue, alle Einzelheiten berücksichtigende Beschreibung der Serumgewinnung gegeben werden.

1. Auswahl der serumliefernden Tiere.

Es ist bereits erwähnt, daß für die Gewinnung spezifischen präzipitierenden Serums fast ausschließlich das Kaninchen in Betracht kommt. Bei der Kleinheit des Tieres ist die zu gewinnende Serummenge eine relativ geringe; doch hat dieses Tier andererseits den Vorteil, daß es zur Vorbehandlung geringerer Blutmengen bedarf wie größere Tiere, was bei der immerhin schwierigen Beschaffung von Menschenblut ins Gewicht fällt. Die Versuche, größere Tiere, wie Pferde, Esel, Ziegen, Schafe und Hunde für die Gewinnung von Antiserum zu benutzen, führten bisher zu keinem befriedigenden Resultat; so konnte Uhlenhuth weder von einem Hammel noch einer Ziege, denen er während zweier Monate im ganzen $1^1/_2$—2 Liter menschliches Blut, bzw. Aszitesflüssigkeit injizierte, ein für forensische Zwecke brauchbares Antiserum gewinnen. Auch Schüller konnte von Ziegen, die er mit Pferdefleischextrakten behandelte, brauchbare Antisera nicht gewinnen. Schütze erzielte von einem Bullen, den er mit Pferdeblutserum behandelte, ein praktisch brauchbares Serum. Offenbar ist die Fähigkeit, Präzipitine zu liefern, nur bei wenigen Tierarten eine so prägnante, wie das für die Bildung anderer Antikörper (Agglutinine, Bakteriolysine usw.) der Fall ist. Das Kaninchen, und zwar die langohrige Art, scheint das geeignetste Tier für die Gewinnung präzipitierender Sera zu sein; doch spielt die Individualität des Tieres eine sehr große Rolle, so daß man immer 5—6 Tiere für die Serumgewinnung einstellen muß. Ein kräftiges, großes Kaninchen liefert etwa 40,0 bis 60,0 ccm Serum. In Anbetracht der geringen Menge Antiserum, die man für die Ausführung der Reaktion braucht, ist das ein ganz erhebliches Quantum, mit dem man zahlreiche biologische Untersuchungen erledigen kann. Auch verschiedene andere Gründe sprechen noch für die Verwendung des Kaninchens, so beispielsweise der Kostenpunkt, der bei der größeren Anzahl von Versuchstieren, die man aus eben erörtertem Grunde zur Serumgewinnung stets braucht, Berücksichtigung verdient. Außer dem Kaninchen sind auch Hühner (Uhlenhuth) zur Produktion präzipitierender Sera geeignet, während die Kaltblüter nach den Untersuchungen von v. Dungern u. a. überhaupt keine Präzipitine liefern. Meerschweinchen geben selbst nach langdauernder Vorbehandlung präzipitierende Sera von nur schwacher Wirksamkeit (Uhlenhuth), so daß sie praktisch nicht in Frage kommen.

Im allgemeinen gilt die Regel zwecks Gewinnung präzipitierender Sera möglichst artfremdes Eiweiß dem zur Vorbehandlung in Frage kommenden Tiere zu injizieren, z. B. um ein Taubeneiweiß präzipitierendes Serum zu gewinnen, empfiehlt es sich, Taubeneiweiß Kaninchen zu injizieren, nicht aber Taubeneiweiß aufs Huhn zu übertragen, da bei der nahen Verwandtschaft dieser beiden Eiweißarten das Taubeneiweiß im

Huhn keine bindende Gegengruppe findet (Bordet und Nolf). Daß es von dieser Regel aber Ausnahmen gibt, zeigen die oben erwähnten Untersuchungen Uhlenhuths, dem es gelang, durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Hasenblut und von Affen mit Menschenblut präzipitierende Sera herzustellen. Da die Fähigkeit, Immunserum zu liefern, von einer geimpften trächtigen Mutter auf die Jungen übergeht (zeigt doch auch ihr Serum Präzipitingehalt, wenn auch schwächeren als das der Mutter), so macht Leers den Vorschlag, die herangewachsenen, zur Antikörperbildung disponierten Jungen ebenfalls, mit demselben Serum, wie die Mutter, zu impfen und späterhin belegen zu lassen, um auf diese Weise ein gut reagierendes Geschlecht heranzuziehen. Mertens konnte feststellen, daß das Serum des Jungen von einem mit eiweißhaltigem Urin eingespritzten Kaninchens, das selbst Präzipitine lieferte, auch eine deutliche Präzipitinreaktion in Eiweißharn und Blutserum hervorrief.

2. Auswahl des Injektionsmateriales.

Was das Injektionsmaterial betrifft, so muß natürlich zur Vorbehandlung der Kaninchen dasjenige Eiweiß benutzt werden, dessen Nachweis durch die Präzipitinreaktion erbracht werden soll. Da es sich in der Praxis meistens um Blut oder Fleisch handelt, so wird man in diesen Fällen am besten Blut resp. Muskelsaft als Injektionsmaterial verwenden.

Zur Herstellung der Antisera zum forensischen Blutnachweis hat Uhlenhuth zuerst nur defibriniertes Blut als Injektionsmaterial verwandt und in Vorschlag gebracht. Von Nolf u. a. wurde dann die Tatsache festgestellt, daß die spezifisch wirkenden Präzipitine nur durch das Eiweiß des eingespritzten Serums, nicht aber der Blutkörperchen erzeugt werden. Somit glaubte man, daß die korpuskulären Elemente des Blutes völlig wertlos seien. Es ist jedoch Leblanc gelungen, durch Einspritzung von Blutkörperchen allein ein spezifisch wirkendes Antihämoglobinserum zu erzeugen. A. Klein konnte ebenso durch Vorbehandlung von Kaninchen mit gereinigten Hämoglobinlösungen Immunsera herstellen, die in den spezifischen Blutkörperchenlösungen starke Niederschläge hervorriefen, nicht aber in den zugehörigen Serumlösungen (s. oben).

Da es sich in der forensischen Praxis fast durchweg um angetrocknete Blutflecken handelt, in denen ja sowohl Serum wie Blutkörpercheneiweiß vorhanden ist, so wäre es begreiflicherweise am rationellsten, wenn man das ganze Blut zur Vorbehandlung der Versuchstiere benutzen würde, da in diesem sämtliche reaktionsfähigen Eiweißstoffe vorhanden sind. Die zahlreichen ad hoc angestellten Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß man durch Injektion von blutkörperchenfreiem Serum allein zum Ziele kommt.

Vom praktischen Standpunkte aus wendet man am besten reines Serum an, nur wenn ganz wenig oder schwer zu beschaffendes Blutmaterial zur Verfügung steht, ist es vorteilhaft, zur völligen Ausnutzung desselben das ganze Blut in Anwendung zu ziehen.

Die Anwendung des Serums hat vor der des defibrinierten Blutes zahlreiche Vorzüge. So ist die Gewinnung einfacher, da die lästige Prozedur des Defibrinierens fortfällt, was beim menschlichen Blut, zumal wenn es langsam fließt, wegen der eintretenden Gerinnung ohne weitere Zusätze überhaupt kaum möglich ist. Die Schwierigkeit des Defibrinierens zeigt

sich auch ganz besonders bei dem sehr schnell gerinnenden Vogelblut. Außerdem ist die intravenöse Einspritzung von Serum weniger gefahrvoll als die von Blut wegen der nach letzterem auftretenden Hämolysinbildung (Bordet). Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß man Serum bequem durch bakteriendichte Filter filtrieren kann. Auf diese Weise kann man es als flüssigen Vorrat für weitere Einspritzungen aufbewahren. Steril entnommen hält sich das Serum auch ohne Filtration, die absolute Klarheit desselben bietet dann ziemlich sichere Garantie für die Sterilität. Um eine jahrelange Konservierung von schwer zu beschaffendem Injektionsmaterial zu erreichen, bedient man sich auch mit Vorteil der weiter unten angegebenen Eintrocknungsmethode.

Sollen die präzipitierenden Sera zum Nachweis von Pferdefleischeiweiß dienen, so ist es a priori am rationellsten, die Vorbehandlung der Kaninchen mit Pferdefleischsaft vorzunehmen. Einen solchen Saft erhält man am besten durch Auspressen des zerkleinerten Fleisches durch nasse Kolirtücher in einer Preßmaschine oder durch das Gefrieren des Fleisches und nachfolgendes schnelles Auftauen desselben (Gröning). Fleischpreßsaft hat sich nach den Untersuchungen von Piorkowski, Ascoli und Grund als Injektionsmaterial nicht bewährt, denn die Tiere gingen infolge der giftigen Eigenschaften des Fleischsaftes schnell zugrunde. Nur Nötel und Ruppin ist es gelungen, so vorbehandelte Tiere durchzubringen, doch haben die Autoren hiermit nur schwach wirksame Sera erzeugen können. Umfangreiche Untersuchungen, die wir selbst in dieser Richtung vorgenommen haben, haben uns ebenso wie W. A. Schmidt gezeigt, daß die Kaninchen den Fleischpreßsaft sehr schlecht vertragen. Nur bei steriler Gewinnung von Fleischsaft, der aus ganz frisch entnommenem Pferdefleisch ausgepreßt war und steril intravenös Kaninchen einverleibt wurde, gelang es uns, ein spezifisches hochwertiges Serum herzustellen. Schmidt berichtet, daß filtrierter Fleischsaft dagegen in hohem Maße zur Gewinnung spezifischer Sera geeignet ist, und daß sich hiermit leicht ein Serum erzeugen läßt, welches nicht nur reich an Muskeleiweiß-, sondern auch an Bluteiweißpräzipitin ist. Schmidt stellt sich den Preßsaft in folgender Weise her:

Der Preßsaft wird für jede Injektion frisch aus möglichst fettfreiem Muskelfleisch, welches 2—12 Stunden alten Leichen entnommen ist, gewonnen. Das Fleisch wird darauf direkt ohne Zerkleinerung in einer (nicht sterilisierten) Fleischpresse ausgepreßt und dann durch ausgekochte Berkefeldsche Kerzen filtriert.

Nötel empfiehlt zur Vorbehandlung der Tiere Pferdefleischextrakte, welche er in folgender Weise darstellt:

Grob zerkleinerte Fleischstücke werden in einer großen Doppelschale oder auch in einem Suppenteller ausgebreitet und mit soviel 0,1 %iger Sodalösung übergossen, daß sie gerade bedeckt sind. Man läßt das Gemisch 3 Stunden bei 37° stehen, gießt die dunkelrote Flüssigkeit ab, preßt die Fleischstücke kräftig durch ein starkes, vorher mit Sodalösung durchfeuchtetes Kolirtuch und mischt den Preßsaft mit der vorher abgegossenen Flüssigkeit.

Schütze erzielte ein streng spezifisches Antiserum mit Muskeleiweiß, das er auf chemischem Wege isolierte. Fornet und Müller stellten sich das Injektionsmaterial in folgender Weise her:

„Ein ca. $^1/_4$ kg schweres, faszienfreies Stück Pferdefleisch wird zunächst in der Flamme des Bunsenbrenners allseitig abgebrannt oder eine

Minute in kochendem Wasser gehalten und dann auf steriler Unterlage mit sterilem Messer halbiert. Von den Schnittflächen schabt man mit dem Messer ca. 50 g Fleischmasse ab, bringt diese in einen sterilen Mörser und zerreibt und zerstampft sie, bis sie eine zähe zusammenhängende Masse bildet. Durch allmählichen Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung (bis zur doppelten Gewichtsmenge) verwandelt man das Ganze in einen dicken Fleischbrei. Dieser bleibt nach Zusatz von 10 bis 20 Tropfen Chloroform 2—3 Stunden im Eisschrank, wird dann durch ein feines Haarsieb gegossen und ist dann gebrauchsfertig."

Will man sich für die weiteren Einspritzungen die Fleischeiweißlösungen aufbewahren, so versetzt man sie zweckmäßig mit kleinen Mengen von Chloroform, das man vor der Einspritzung der Tiere durch leichtes Erwärmen verdunsten läßt. SCHÜLLER empfiehlt das Diaphtherin (Höchst) als Konservierungsmittel des Injektionsmaterials.

Am besten ist es jedoch, für jede Einspritzung eine frische Fleischlösung herzustellen.

Wir benutzen für die Herstellung der für die Fleischuntersuchung in Betracht kommenden Antisera fast ausschließlich Pferdeserum. Nach unseren Erfahrungen ist die Vorbehandlnng der Tiere mit Pferdeserum am bequemsten und in allen Fällen ausreichend. Sie hat gleichzeitig noch den Vorteil, daß man die so gewonnenen Antisera auch zum forensischen Blutnachweis benutzen kann.

3. Gewinnung des Injektionsmaterials.

Das zur Vorbehandlung der Versuchstiere dienende Menschenblut, das möglichst steril sein muß, bezieht man zweckmäßig aus den Entbindungsanstalten. Nach den Angaben von UHLENHUTH wird die Blutentnahme bei Geburten am besten in folgender Weise ausgeführt:

Sobald der Kopf des Kindes im Einschneiden ist, werden unter dem Steiß bis zum Knie der Kreißenden sterile Tücher ausgebreitet. Das Neugeborene wird auf diesen, nachdem die Hände des Geburtshelfers mit ausgekochten Gummihandschuhen versehen sind, abgenabelt und das plazentare Ende der Nabelschnur komprimiert. Nachdem der obere Rand eines großen sterilen Zylinderglases in der Flamme abgeglüht ist, wird die Nabelschnur vorsichtig hineingehängt und durch Druck auf den Uterus das in der Plazenta befindliche Blut möglichst herausgepreßt. Nachdem auch das in der Nabelschnur noch befindliche Blut ausgedrückt ist, wird das Glas mit abgesengtem Wattebausch verschlossen. Auf diese Weise gewinnt man von jeder Geburt 20—30 ccm Blut. Falls man hierbei von einer sterilen Gewinnung des Blutes absieht, kann man gleichzeitig durch den retroplazentaren Bluterguß oft noch ein beträchtliches Quantum Blut erhalten.

Das aus diesem Blut gewonnene Serum kann dann, nachdem es durch eine BERKEFELDsche Kerze filtriert oder mit etwas Chloroform (ZIEMKE) versetzt ist, längere Zeit aufbewahrt werden.

Eine weitere sehr zweckmäßige Art der Blutgewinnung ist die mit dem HEURTELOUPschen Schröpfapparat, wie er bei Augenkranken in der Schläfengegend angesetzt wird; man gewinnt mit diesem Apparat etwa 15 ccm Blut.

Bei weitem am besten ist aber die Ausbeute beim Aderlaß, denn man kann hierbei bequem 200 ccm Blut erhalten.

Zur Ausführung des Aderlasses wird der Oberarm der betr. Person mit einer Gummibinde umschnürt, so daß die Venen anschwellen; dann

wird die Haut kräftig mit einem Alkoholtupfer abgerieben, mit Äther nachgetupft und in der Ellenbeuge eine Vene mit der Hohlnadel angestochen. Das ausfließende Blut wird in Reagenzgläser aufgefangen. Nach Lösung der Gummibinde wird die Stichöffnung nach Herausziehen der Nadel mit Heftpflaster verschlossen.

Da es aber erfahrungsgemäß nur selten vorkommt, daß sich Gesunde Blut abziehen lassen, so wird man bei der sterilen Gewinnung von Menschenblut meist auf Geburten oder therapeutische Eingriffe angewiesen sein.

Auch die Verwendung von Leichenblut für die Vorbehandlung von Kaninchen kann empfohlen werden (Ziemke, Nuttall, Hauser, Weichardt, W. A. Schmidt). Ziemke erzielte zuerst auf diese Weise ein hochwertiges Serum. Zur Gewinnung von Leichenblut öffnete er unter aseptischen Kautelen den Thorax, schnitt die Vorhöfe des Herzens an und schöpfte das sich in den Herzbeutel ergießende Blut steril aus.

W. A. Schmidt hat von frischen, 2 Stunden alten Leichen, bei denen das dem Herzen und Arterien entnommene Blut noch nicht koaguliert war, 500—800 ccm klares tadelloses Serum gewonnen, das er durch Berkefeldsche Filtration steril machte. Meist aber ist bei den Leichen schon Koagulation eingetreten, bzw. das entnommene Blut bleibt flüssig und scheidet kein Serum ab, so daß auch eine Filtration unmöglich ist.

Hauser, der ebenfalls in größerem Umfange mit gutem Erfolge Leichenblut als Injektionsmaterial verwendet, entnimmt es in folgender Weise:

Bei einer möglichst frischen Leiche präpariert er sich von dem gewöhnlichen Sektionsschnitt aus die Vena jugularis externa frei und führt in diese ein an dem einen Ende kurz abgebogenes und mit einer leichten Einschnürung versehenes Glasrohr bis in den rechten Vorhof ein. An der Stelle der Einschnürung legt er dann eine feste Ligatur um die Jugularis. Durch Heben der Extremitäten, eventuell auch der ganzen Leiche, sowie durch leichtes Pressen auf das Abdomen gelingt es dann leicht, große Mengen flüssigen Blutes auslaufen zu lassen, die er in weite, bis etwa 80 cem haltende, sterile Glasröhren abfüllt. Auf diese Weise konnte er bisweilen von einer Leiche bis über 200 ccm Serum gewinnen, welches er unter Chloroformzusatz auf Eis aufbewahrte und so monatelang unverändert konservieren konnte. Interessant war hierbei seine Beobachtung, daß auch Serum von septischen Leichen (s. B. bei Perforationsperitonitis) völlig steril blieb und von den Kaninchen sowohl bei intraperitonealer als auch bei subkutaner Injektion reaktionslos vertragen wurde. Die mit diesem Material vorbehandelten Tiere lieferten gute brauchbare Antisera. jedoch ist es ratsam das Serum tuberkulöser Leichen nicht zu verwenden, um eine tuberkulöse Infektion der Versuchstiere zu vermeiden.

Eine Methode der Blutentnahme, die auch ohne Sektion der Leiche ausgeführt werden kann, ist von Oberndorffer angegeben. Er entnimmt das Blut durch direkten Einstich in den rechten Vorhof des Herzens durch die vorher sterilisierte Haut. Oberndorffer ist es dabei oft gelungen, eine große Menge reines Serum zu gewinnen. Er gibt hierfür folgende Erklärung:

„Wie in einem Gefäß wird sich auch im Herzen das ruhende Blut, da die Leiche immer die Rückenlage beibehält, sedimentieren, das Serum entweder vom Blutkuchen ausgepreßt oder bei ungeronnenem Blut sich oben klärend in den oberen Partien des Vorhofs ansammeln. Gelangen wir mit unserer Kanüle direkt in diese Schicht, so gelingt es, das reine

Serum abzuheben, das wir mit der Spritze sofort, also ohne weitere Vorbereitung, dem betreffenden Tiere einverleiben können, eine Prozedur, die mit dieser Methode im ganzen in wenigen Minuten ausgeführt ist, während wir bei allen anderen Blutentnahmen zuerst Serum darstellen müssen."

Zur Blutentnahme bedient sich OBERNDORFFER einer Injektionsnadel, die in das eine Ende eines Glasrohres eingeschmolzen ist, während das andere Ende des Glasrohres durch einen Gummischlauch mit einem Gummiballon verbunden ist, der neben dem Ansatz für den Gummischlauch noch eine zweite freie Öffnung besitzt. Das mit dem Gummischlauch verbundene Ende des Glasrohres wird mit einem Wattepfropfen versehen. Das Glasrohr mit Wattepfropfen einerseits und steriler Kanüle andererseits wird vor dem Gebrauch sterilisiert; beim Ansetzen des Schlauches an das Glas bleibt der Wattepfropfen sitzen, da er als Bakterienfilter für die durchstreifende Luft dienen soll (Fig. 20).

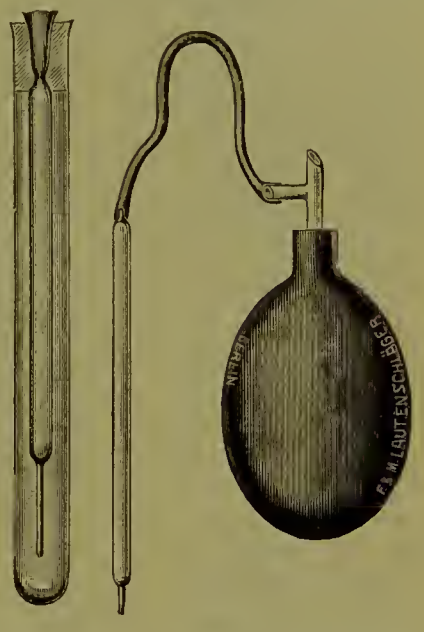


Fig. 20. Apparat zur sterilen Gewinnung von Leichenblut nach OBERNDORFFER.

Die Anwendung des Apparates geschieht in der Weise, daß man zuerst die Kanüle in den rechten Vorhof einsticht, dann den Gummiballon komprimiert, wobei die Luft durch die Öffnung des Ballons entweicht; verschließt man nun mit dem Finger diese Öffnung, so saugt der sich ausdehnende Ballon die Flüssigkeit im rechten Vorhof langsam unter geringem Druck an. Man hat hierbei jederzeit in der Hand, die Aspiration zu sistieren, indem man die obere Öffnung frei macht.

Mit Hilfe einer der angegebenen Methoden wird man wohl stets in der Lage sein, genügend Menschenblut resp. Serum zur Vorbehandlung mehrerer Kaninchen zu gewinnen.

Im Notfalle kann man sich auch zur Injektion Aszites (SCHÜTZE, ARTHUS und VANSTEENBERGHE), Hydroceleflüssigkeit, Pleuraexsudat (DIEUDONNÉ, BUTZA), Eiweißurin (MERTENS und ZÜLZER) bedienen.

Die beste Methode für die Gewinnung von Blut der größeren Tiere (Pferde, Rinder, Hunde, Ziegen) ist das Einstechen eines sterilen Troikarts in die Vena jugularis, nachdem diese durch einen unterhalb der Einstichstelle um den Hals gelegten Strick zur Anschwellung gebracht ist. Bei langhaarigen Tieren hat man, um das Hervortreten des komprimierten Gefäßes überhaupt wahrnehmen zu können, diesen Abschnitt des Halses zu scheren. Das Blut wird dann, nachdem man das erste hat abfließen lassen, unter Beobachtung aseptischer Kautelen in großen, etwa 600 ccm fassenden sterilisierten Glaszylindern von etwa 6 cm Durchmesser aufgefangen.

Von GRAWITZ ist zur sterilen Blutentnahme an größeren Tieren ein Apparat empfohlen worden, bei dem die Injektionsnadel mittels eines Gummischlauches, der mit einer Klemme versehen ist, mit einem Meßzylinder in Verbindung steht.

Hat man genug Blut erhalten, so wird, ehe man die Kanüle aus der Vene herauszieht, der um den Hals gelegte Strick gelöst. Nach Herausziehen der Kanüle wird die etwa auftretende Blutung durch leichte Kompression mit steriler Watte gestillt.

Stehen in den Versuchsställen größere Tiere zur Blutentnahme nicht dauernd zur Verfügung, so kann man sich das zur Einspritzung nötige Blut auch aus dem Schlachthof verschaffen. Nach Betäubung der Schlachttiere läßt man sich die Haut über den großen Halsgefäßen zurückpräparieren, um eine Verunreinigung des Blutes durch Haare möglichst zu vermeiden, und fängt das aus den durchschnittenen Halsgefäßen ausströmende Blut in sterile Glaszylinder auf, nachdem man das erste hat abfließen lassen.

Bei Schweinen wird man durch Auffangen des nach dem Herzstich in großem Strahle ausströmenden Blutes genügend Material gewinnen können. Allerdings dürfte eine absolute Sterilität des Blutes bei Entnahme während des Schlachtens nicht garantiert werden können. Will man von Schweinen steriles Blut gewinnen, so empfiehlt es sich, einen großen Troikart, der an einem Schlauch und Flasche (sterilisiert) armiert ist, nach Desinfektion der äußeren Haut in das Herz einzustechen und das Blut direkt in die Flasche fließen zu lassen. Kleinere Blutmengen kann man vom lebenden Tier aus den Ohrvenen oder der Schwanzarterie entnehmen, nachdem man vom Schwanz nach sorgfältiger Desinfektion ein Stück abgeschnitten hat.

Die Blutentnahme ist bei kleineren Tieren, falls man sie nicht tötet, oft mit Schwierigkeiten verbunden. Bei Affen z. B. muß man sich operativ eine der großen Venen oder Arterien (jugularis, femoralis, brachialis usw.) freilegen und anschneiden.

Bei Tieren mit gut ausgebildeten Ohrvenen, wie das bei den Kaninchen der Fall ist, kann man bequem aus diesen Blutgefäßen die nötige Blutmenge gewinnen (s. unten).

Bei Hühnern, Tauben, Gänsen usw. schneidet man zweckmäßig, falls man sie nicht schlachten will, eine Flügelarterie an, nachdem man die Federn über der Arterie beseitigt und die Haut mit Alkohol und Äther gründlich gereinigt hat. In diesen Fällen wird man auf eine Sterilität des Materials verzichten müssen.

Hat man auf diese Weise das Blut gewonnen, so wird es für die Injektion vorbereitet. Zieht man vor Blut zur Einspritzung zu verwenden, so wird es durch Schütteln unmittelbar nach dem Auffangen in sterilen Erlenmeyerschen Kolben, in welche man vorher Glasperlen oder ausgeglühten Eisendraht eingebracht hat, defibriniert.

Soll aber aus dem Blute Serum gewonnen werden, so fängt man das Blut vorteilhaft in Blutserumzylindern auf und läßt es, nachdem man das Gefäß gut verschlossen hat, bei gewöhnlicher Temperatur einige Stunden und dann über Nacht im Eisschrank stehen; dann wird das meist gut abgesetzte klare Serum mit einer sterilen Glaspipette abgehebert und in sterile Reagenzgläser abgefüllt. Will man das in dem Zylinder zurückbleibende Blut zur Serumgewinnung möglichst ausnutzen, so kann man den Blutkuchen, um ihn besser auszupressen, mit einem sterilen Gewicht beschweren (Wassermann).

Will man dieses Material längere Zeit aufbewahren, so gießt man es in gewöhnliche Reagenzgläser. Diese werden mit in 10%ige Formollösung getauchtem Wattestopfen verschlossen, darüber wird eine Gummikappe gezogen. Die Aufbewahrung geschieht im Eisschrank oder in dem von Morgenroth angegebenen Gefrierapparat „Frigo“ (Leers).

Was nun die Konservierung des Injektionsmaterials betrifft, so kann man steril gewonnenes oder durch keimdichte Filter filtriertes Serum in zugeschmolzenen Reagenzgläsern dauernd aufbewahren. Zur

Konservierung des Serums wird von einigen Autoren auch der Zusatz von kleinen Mengen Chloroform empfohlen. Durch leichtes Erwärmen hat man diesen Zusatz vor der Einspritzung der Tiere zur Verdunstung zu bringen. Als weiterer konservierender Zusatz ist zu erwähnen 0,5%ige Karbolsäurelösung. Dieser Zusatz schädigt das Kaninchen, wenn er mit dem Serum in die Blutbahn gelangt, in keiner Weise.

Auch die von UHLENHUTH vorgeschlagene Eintrocknungsmethode ist empfehlenswert. Man läßt das möglichst steril entnommene Blut oder Serum in PETRIschalen in dünner Schicht (1—5 mm) in der Sonne oder im Brutschrank bei 37° C eintrocknen. Das eingetrocknete Blut resp. Serum wird dann mit einem Messer abgekratzt und in Reagenzgläsern aufbewahrt (Fig. 21). Soll dieses Material zur Vorbehandlung der Tiere verwandt werden, so wird es in einem Mörser fein zerrieben und in physiologischer Kochsalzlösung bis zur Sättigung aufgelöst. UHLENHUTH hat auf diese Weise mit vier Jahre altem, getrocknetem Blutmaterial hochwertige Antisera erzeugen können. MOLITORIS hat neuerdings die Brauchbarkeit dieser Methode bestätigt. Wenn auch frisches Blut und Serum im allgemeinen den Vorzug verdienen, so kann man bei schwer zu beschaffendem Blut z. B. bei Wild in der Schonzeit, mit angetrocknetem Material sich behelfen. WEICHARDT empfiehlt sofortige Antrocknung des Blutes bei einer Temperatur nicht über 30° unter hohem Vakuum und Aufbewahrung des Trockenblutes im Exsikkator. Bei stark verunreinigtem Blut (Leichenblut) empfiehlt es sich, nach Angaben von LÖFFLER, das angetrocknete Blut durch halbstündiges Erhitzen auf 150° keimfrei zu machen; die Fähigkeit spezifische Antikörper zu bilden, geht dabei nicht verloren. MODICA fand allerdings, daß das so behandelte Blut sich schlecht löst und daher schwer verwendet werden kann. Er empfiehlt, das getrocknete Leichenblut in fünf Gewichtsteilen Glyzerin aufzulösen und die Lösung 4 Tage lang einer Temperatur von 37—38° oder 1 Tag lang einer solchen von 40—50° auszusetzen. Auch das flüssige Blut kann nach MODICA durch Zusatz von Glyzerin sterilisiert werden.

Fig. 21. I angetrocknetes Blut. II angetrocknetes Serum.

Zur Konservierung von Fleischauszügen ist von LOELE eine sterilisierte Formalin-NaCl-Lösung (Formalin 2,0, Kochsalz 0,8, Wasser 170,0) — zu gleichen Teilen zum Fleischauszug zugesetzt — empfohlen. Noch geeigneter hat sich nach LOELE eine Formalinkalkmagnesialösung folgender Zusammensetzung erwiesen: Aqu. dest. 75,0, 1%ige Lösung von Calciumchlorid 15,0, 1%ige Magnesiumchloridlösung 10,0, Formalin (Schering) 1,0. Dabei soll das verwendete destillierte Wasser durch Zusatz von Kalk und Magnesiasalzen auf einen Gehalt von ca. 270 deutschen Härtegraden gebracht werden, da sonst die Blutauszüge nicht lange präzipitabel bleiben. Nach unseren Erfahrungen eignet sich dieselbe nicht, da Formalin die Eiweißkörper stark schädigt und die Kaninchen Formalin

Fig. 22.

schlecht vertragen. Schüller empfiehlt das für die Konservierung von Immunseris angegebene Diaphtherin (Oxychinaseptol) (Prettner, Emmerich). Nach Schüllers Angaben können aus frischem Fleisch unter aseptischen Kautelen hergestellte Auszüge nach Zusatz von 0,05—0,075% Diaphtherin monatelang keimfrei aufbewahrt werden, ohne an Wirksamkeit einzubüßen. Bakterienhaltiges Injektionsmaterial kann durch Zusatz von 0,1—0,2% Diaphtherin innerhalb 8—14 Tagen keimfrei gemacht werden.

4. Art der Einspritzung des Materials.

Nachdem man das Material zur Einspritzung gesammelt und vorbereitet hat, beginnt man mit der Vorbehandlung der Tiere. Zur Injektion bedienen wir uns graduierter bis 5 ccm fassender, sterilisierbarer Spritzen, die zweckmäßig zwei kleine Handhaben für den Zeige- und Mittelfinger besitzen. Um die meist in Reagenzgläschen aufbewahrte Injektionsflüssigkeit mit der Spritze bequem aufziehen zu können, empfiehlt es sich, dieselbe in kleine kurze Röhrchen, die in ein kleines Glas (Schnapsglas) gestellt werden, umzugießen (Fig. 22).

Ob man die Injektion intraperitoneal, subkutan oder intravenös ausführt, ist abhängig von dem zur Verwendung kommenden Material. Im allgemeinen ist die intravenöse und intraperitoneale Methode der subkutanen vorzuziehen, da das Blut des Kaninchens bzw. sein Serum in der injizierten Eiweißlösung etwa vorhandene Bakterien am ehesten unschädlich zu machen imstande ist, und auch das Bauchfell relativ unempfindlich gegen Infektionserreger ist. Im Gegensatz hierzu verfügt das Unterhautgewebe über natürliche Schutzkräfte in ähnlichem Umfange nicht, so daß sich die subkutane Injektion einer Eiweißlösung nur dann empfiehlt, wenn diese steril ist. Bei Vorbehandlung der Tiere mit reinem Serum bedient man sich am besten der intravenösen Methode, die im allgemeinen auch als wirksamste angesehen werden muß; bei Verwendung von defibriniertem oder angetrocknetem Blute und Fleischsaft als Injektionsmaterial würde der intraperitoneale Weg vorzuziehen sein.

Auch auf stomachalem Wege ist es möglich, wie Uhlenhuth (1900) zuerst festgestellt hat, Präzipitine zu erzeugen, jedoch liefern die Tiere erst brauchbare Sera nach Einführung sehr großer Mengen von fremdem Eiweiß. Für die Praxis kommt daher diese Methode nicht in Betracht.

Was die Dosierung des Injektionsmaterials anlangt, so haben fast alle Autoren anfangs viel zu hohe Dosen, im ganzen — 50—80 ccm, angewandt. Biondi, Nuttall, Strube und Uhlenhuth fanden, daß schon geringe Serummengen zur Erzeugung von Antiseris genügten. Nuttall gelang es mit im ganzen 18 ccm Serum brauchbare Antisera zu erzielen. Wir selbst erhielten nach dreimaliger Injektion von je 1 ccm, zusammen 3 ccm, wirksame Antisera mit einem Titer von 1:20000.

Was nun den Modus und die Häufigkeit der Injektionen anbelangt, so hat es sich als das zweckmäßigste herausgestellt, alle 5 bis 6 Tage intravenös 1—3 ccm Serum zu injizieren. Behandelt man in dieser Weise mehrere Tiere vor, so liefern einzelne bisweilen schon nach der dritten Injektion hochwertige Antisera, während sich bei andern selbst nach zahlreichen Injektionen überhaupt keine Präzipitine in ihrem Serum nachweisen lassen. Die Individualität des Tieres scheint für die Präzipitinbildung von ausschlaggeben-

der Bedeutung zu sein (Uhlenhuth, Grund usw.). Die Tatsache, daß Tiere, die nach den ersten drei Injektionen bereits ein brauchbares Serum lieferten, durch weitere Behandlung bisweilen einen Rückgang und völligen Schwund ihrer Präzipitine (Uhlenhuth, Schur usw.) zeigten, führt Uhlenhuth auf ein Erlahmen des Rezeptorenapparats zurück. Setzt man bei solchen Kaninchen die Einspritzungen mehrere Wochen aus, so kommt es nicht selten vor, daß die Tiere bereits nach der ersten wieder aufgenommenen Injektion ein brauchbares Antiserum liefern. Jedoch ist das nicht konstant. Man tut daher gut, die Tiere, sobald sie ein brauchbares Serum liefern, sofort zu schlachten.

Von Fornet und Müller ist neuerdings eine „Schnellimmunisierungsmethode" angegeben, mit der es gelingen soll, in wenigen Tagen und ohne Tierverluste wirksame Antisera aller Art herzustellen. Die Autoren verfuhren in der Weise, daß sie die Kaninchen am 1., 2. und 3. Tage mit 5, 10 und 15 ccm der zu injizierenden Eiweißart intraperitoneal spritzten und am 12. Tage verbluten ließen.

Nach den Untersuchungen, die auf Veranlassung von Uhlenhuth von Haendel, Trommsdorff und Steffenhagen im Kaiserlichen Gesundheitsamt ausgeführt wurden, konnten die Angaben von Fornet und Müller nicht bestätigt werden.

Die intraperitoneale Impfung wird nach Uhlenhuth in folgender Weise vorgenommen:

Ein Gehilfe umfaßt mit seiner rechten Hand die beiden Hinterbeine des Kaninchens und hält dieselben nach oben, während die linke Hand beide Vorderbeine umfaßt und sie nach abwärts hält, so daß der Kopf des Tieres senkrecht nach unten hängt. Auf diese Weise wird erreicht, daß die Gedärme möglichst in die obere Hälfte der Bauchhöhle hineinfallen. Die Bauchseite des senkrecht gehaltenen Tieres wird demjenigen, der die Injektion ausführt, zugewandt. Dieser wählt nun als Stelle der Einspritzung die Unterbauchgegend, entfernt dort vermittels einer Schere die Haare und schneidet mit steriler Schere die zur Falte erhobene Oberhaut durch, so daß an einer etwa erbsengroßen Stelle die Muskulatur freiliegt. Mit einer stumpfen Kanüle wird nunmehr die Bauchwand vorsichtig durchstoßen, dann die Spritze aufgesetzt und die Injektionsmasse eingespritzt. Nach dem Herausziehen der Nadel wird die kleine Wunde mit Kollodiumwattebausch verschlossen (Fig. 23). Nuttall, der dieselbe Technik anwendet, rasiert zur größeren Vorsicht vorher die Impfstelle und desinfiziert sie noch mit Lysol.

Fig. 23. Intraperitoneale Impfung von Kaninchen nach Uhlenhuth.

Miessner und Herbst führen die intraperitoneale Impfung bei Rückenlage der Kaninchen aus. W. A. Schmidt verfährt in der Weise, daß er die Bauchdecke des Kaninchens faltenartig vorzieht und sich dann durch Palpation vergewissert, daß sich im Innern der Bauchdeckenfalte keine Darmschlingen befinden. Ist das der Fall, so durchsticht er mit einer spitzen Kanüle die ganze Bauchdeckenfalte, so daß die Kanülenspitze an der anderen Seite wieder sichtbar wird. Nunmehr zieht er die Kanüle vorsichtig zurück, bis sich die Spitze in der Bauchhöhle befindet.

In Notfällen kann auch die intraperitoneale Impfung ohne jede Assistenz ausgeführt werden.

Man umfaßt zu diesem Zwecke mit der linken Hand die beiden Hinterschenkel des Kaninchens, während der Operateur mit seinen Oberschenkeln den so nach unten gerichteten Kopf und die Brust des Tieres fixiert. Die freigebliebene rechte Hand des Operateurs führt dann die Injektion aus. Eventuell bindet man auch das Tier auf eines der üblichen Tierbretter auf.

Fig. 24. Intravenöse Impfung.

Ist die Injektion richtig ausgeführt, so überstehen die Kaninchen die Operation in der Regel gut; sie zeigen wohl einen Tag geringe Freßlust, werden dann aber bald wieder vollkommen munter.

Die Technik der intravenösen Impfung ist folgende:

Der Gehilfe, der sich auf einen Stuhl setzt, nimmt das Kaninchen auf den Schoß und umwickelt Kopf, Leib, Vorder- und Hinterbeine so, daß nur das Ohr heraussieht. Dieses wird mit Alkoholsublimatlösung desinfiziert. Durch Kompression der Ohrvene an der Ohrwurzel eventuell noch durch Betupfen mit einem in heißes Wasser getauchtem oder mit Xylol getränktem Wattebausch schwillt das Blutgefäß zu einem deutlichen Strang an, und man kann jetzt mit Leichtigkeit die Kanüle der Injektionsspritze in dasselbe einführen. Um während der ganzen Dauer der Operation eine starke Schwellung der Blutgefäße zu haben, ist es zweckmäßig, das Ohr des Tieres aus nächster Nähe mit einer elektrischen Birne zu bestrahlen (P. Th. Müller). Man hat sorgfältig darauf zu achten, daß keine Luftblasen mit in die Vene hineingelangen. Die Tiere werden zuweilen unruhig, sobald man anfängt, den Stempel der Spritze vorzuschieben; es kommt deshalb viel darauf an, wie sie von dem Gehilfen gehalten werden. In jedem Falle tut man gut, die Ein-

spritzung möglichst peripher, nahe dem Ohrende zu machen, weil man dann unabhängig von plötzlichen Bewegungen der Tiere bleibt und auch für weitere Injektionen genügend freies Feld übrig läßt. Auch dürfte es aus diesem Grunde vorteilhaft sein, langohrige Kaninchen auszuwählen (s. oben). Nach dem Herausziehen der Kanüle genügt in den meisten Fällen ein kurzdauerndes Kneifen mit dem Fingernagel oder einer Klemme, um die Blutung aus der Einstichstelle zum Stehen zu bringen. Ist in seltenen Fällen die Nachblutung erheblich, so muß das Gefäß umstochen werden.

Die Tiere können auch von dem Gehilfen, nachdem sie auf den Tisch gesetzt sind, in der aus beistehender Fig. 24 ersichtlichen Weise gehalten werden.

Ist man gezwungen ohne Diener ein Kaninchen intravenös zu injizieren, so eignet sich hierzu der Apparat nach MALASSEZ (Fig. 25).

Während nach der intraperitonealen Injektion, abgesehen von der geringen Freßlust, Krankheitserscheinungen meistens fehlen, sieht man unmittelbar nach der intravenösen Einspritzung häufig Zeichen, die auf ein mehr oder minder schweres Kranksein hindeuten. Am häufigsten sind schwere Dyspnöe, lähmungsartige Schwäche, Durchfälle und unwillkürliches Entleeren von Urin zu beobachten. Unter diesen Erscheinungen können je nach der Herkunft des Serums die Tiere sofort oder nach mehreren Stunden verenden. Im wesentlichen hängt dieses Krankheitsbild bzw. der Tod von der hämolytischen bzw. toxischen Wirkung des fremden Blutserums ab. In dieser Beziehung ist am wenigsten gefährlich Pferde- und Eselserum, das die Kaninchen selbst in großen Dosen (in einem Falle bis 100 ccm) gut vertragen (UHLENHUTH). Es sei hier auch darauf hingewiesen, daß ähnlich wie die Meerschweinchen, auch die Kaninchen nach wiederholten Einspritzungen von Serum überempfindlich werden können.

Soll ausnahmsweise die subkutane Impfung vorgenommen werden, so verfährt man am besten so, daß man das sterile Material in eine Bauchhautfalte injiziert und dann, um eine gleichmäßige Verteilung des Injektionsmaterials zu erzielen, die entstehenden Beulen verstreicht. Die nach subkutanen Einspritzungen auch von sterilem Serum oft auftretenden Infiltrate und oberflächlichen Nekrosen werden durch besondere in einzelnen Serumarten enthaltene nekrotisierende Stoffe hervorgerufen (UHLENHUTH) und lassen sich vermeiden, wenn man das Serum verdünnt. Z. T. sind sie auch nach mehrfachen Einspritzungen als Erscheinungen der Überempfindlichkeit anzusehen. Nach LOELE empfiehlt es sich vor jeder erneuten Injektion das Tier abzutasten, ob sich irgendwo derbere Infiltrate oder Krusten finden und wenn diese vorhanden sind, erst nach Verschwinden derselben die nächste Injektion vorzunehmen.

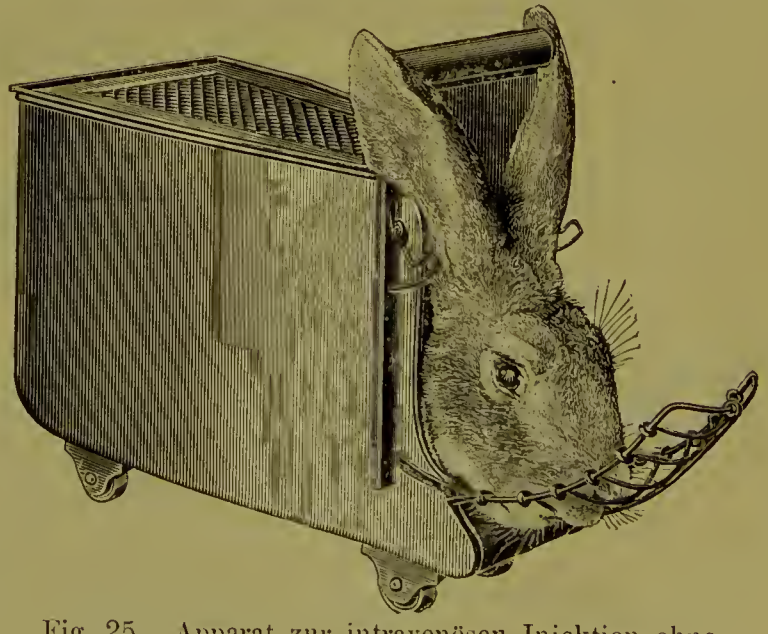


Fig. 25. Apparat zur intravenösen Injektion ohne Assistenz.

Im folgenden sollen anhangsweise einige **Versuchsprotokolle** wiedergegeben werden, die beweisen, daß die Herstellung hochwertiger, präzipitierender Sera nicht ganz einfach ist. Die Gewinnung solcher Sera hängt, wie bereits wiederholt hervorgehoben, von der Individualität des Tieres ab. Im Gegensatz zu anderen Antikörpern findet die Bildung der Präzipitine nicht bei jedem Tiere regelmäßig statt.

1.

Kaninchen K II, mit Menschenserum vorbehandelt.

16. 12. 04 3,0 ccm intrav. (Serum)
20. 12. 04 2,5 „ „ „
27. 12. 04 Reaktion = 0.
28. 12. 04 2,5 ccm intrav. Dyspnöe.
18. 1. 05 2,5 „ „
24. 1. 05 Serum sehr hochwertig, Titer 1 : 200 000.

2.

Kaninchen F III, mit Menschenserum vorbehandelt.

16. 12. 04 3,0 ccm intrav. (Serum).
20. 12. 04 2,5 „ „ „
27. 12. 04 Reaktion = 0.
28. 12. 04 2,5 ccm intrav. starke Dyspnöe.
18. 1. 05 2,5 „ „
24. 1. 05 Serum sehr hochwertig, Titer 1 : 20000, Tier geschlachtet.

3.

Kaninchen K, mit Menschenserum vorbehandelt.

16. 12. 04 3,0 ccm intrav.
20. 12. 04 2,5 „ „
27. 12. 04 Reaktion angedeutet.
28. 12. 04 2,5 ccm intrav.
29. 12. 04 Serum 1 : 1000 +
18. 1. 05 2,5 ccm „
24. 1. 05 Serumtiter 1 : 20000 +; Tier geschlachtet.

4.

Kaninchen K I, mit Menschenserum vorbehandelt.

16. 12. 04 3,0 ccm intrav.
20. 12. 04 2.5 „ „
27. 12. 04 Reaktion angedeutet.
28. 12. 04 2,5 ccm intrav. starke Dyspnöe.
18. 1. 05 8,0 „ intraperitoneal.
2. 2. 05 2,5 „ intrav.
8. 2. 05 Serumtiter 1 : 20000 +, Tier geschlachtet.

Kaninchen VI schwarz, mit Menschenserum vorbehandelt.

1. Injektion 21. 9. 06 2 ccm intravenös mit Menschenserum v. 21. 9. 06
2. „ 26. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 26. 9. 06
3. „ 2. 10. 06 2 „ „ „ „ „ 1. 10. 06

8. 10. 06 Serumprüfung:
Reaktion deutlich sofort bei 1 : 1000
„ „ nach 5 Min. bei 1 : 10 000
„ „ „ 10 „ „ 1 : 20 000

9. 10. 06. Kaninchen wird geschlachtet. Es werden etwa 75 cm Blut aus der Brusthöhle steril gewonnen.

Kaninchen III blaugrau, mit Menschenserum vorbehandelt.

1. Injektion 29. 8. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 24. 8. 06
2. „ 4. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 24. 8. 06
3. „ 8. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 3. 9. 06

13. 9. 06 Serumprüfung:

Das Serum setzt sich gut ab, es tritt aber sofort eine Gerinnung ein, das geronnene Serum ist grauweiß und opaleszierend.

Eine Reaktion ist infolge der Opaleszenz nicht zu konstatieren.

4. Injektion 13. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 3. 9. 06

19. 9. 06 zweite Serumprüfung:

Das Serum zeigt Neigung zur Gerinnung, es ist klar.
Reaktion bei 1 : 1000 nach 10 Min.
„ „ 1 : 10 000 „ 30 „ } deutlich.

5. Injektion 22. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 21. 9. 06

29. 9. 06 dritte Serumprüfung:
Die Reaktion mit Menschenserum sehr deutlich.
bei 1 : 1000 sofortige Trübung
„ 1 : 10 000 nach 2 Min. Trübung
„ 1 : 20 000 „ 5 „ „

Die Reaktion mit angetrocknetem Menschenblut ist nicht so prompt, tritt aber bei 1 : 1000 deutlich nach 5 Minuten auf.

29. 9. 06. Das Tier wird geschlachtet und der Brusthöhle etwa 75 ccm Blut steril entnommen.

Kaninchen II grau, mit Menschenserum vorbehandelt.

1. Injektion 29. 8. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 24. 8. 06
2. „ 4. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 24. 8. 06
3. „ 8. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 3. 9. 06
13. 9. 06 Serumprüfung: Reaktion negativ.
4. Injektion 13. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 3. 9. 06
19. 9. 06 zweite Serumprüfung.
Reaktion bei 1 : 1000 nach 30 Min. angedeutet.
5. Injektion 22. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 21. 9. 06
29. 9. 06 dritte Serumprüfung:
Reaktion deutlich bei 1 : 1000 nach 5 Min.
„ „ „ 1 : 10 000 „ 30 „
6. Injektion 29. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 26. 9. 06
4. 10. 06 vierte Serumprüfung:
Reaktion nur sehr schwach bei 1 : 1000 nach 10 Min.
7. Injektion 6. 10. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 1. 10. 06
13. 10. 06 fünfte Serumprüfung: Reaktion noch sehr schwach.
8. Injektion 15. 10. 06 2 ccm intravsnös mit Serum v. 12. 10. 06
22. 10. 06 sechste Serumprüfung:
bei 1 : 1000 Trübung nach 2 Min.
„ 1 : 10 000 „ „ 10 „
„ 1 : 20 000 „ „ 15 „
9. Injektion 22. 10. 06 2 ccm intravenös.
27. 10. 06 siebente Serumprüfung:
Serum ist schwächer geworden.
Reaktion bei 1 : 1000 nach 10 Min.
10. Injektion 27. 10. 06 2 ccm intravenös.
1. 10. 06 achte Serumprüfung: Reaktion genau wie am 27. 10. 06.
Da das Tier kein hochwertiges Serum liefert, wird es nicht weiter behandelt.

Kaninchen IV hellgrau, mit Menschenserum vorbehandelt.

1. Injektion 21. 9. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 21. 9. 06
2. „ 26. 9. 06 2 „ „ „ „ „ 26. 9. 06
3. „ 2. 10. 06 2 „ „ „ „ „ 1. 10. 06
9. 10. 06 Serumprüfung: Reaktion nach 10 Min. angedeutet bei 1 : 1000.
4. Injektion 9. 10. 06 2 ccm intravenös mit Serum v. 8. 10. 06
13. 10. 06 zweite Serumprüfung: Reaktion positiv
bei 1 : 1000 sofortige Trübung
„ 1 : 10 000 nach 3 Min. Trübung
„ 1 : 20 000 „ 10 „ „
Da die Serumprüfung bereits am vierten Tage nach der letzten Injektion vorgenommen, wird dieselbe zwei Tage später wiederholt.
15. 10. 06 Reaktion etwas schwächer wie am 13. 10. 06
bei 1 : 20 000 nach 20 Min. keine Trübung mehr.
5. Injektion 15. 10. 06 1 ccm intravenös mit Serum v. 12. 10. 06
2 „ subkutan „ „ v. 12. 10. 06
23. 10. 06 vierte Serumprüfung: Reaktion etwas stärker wie am 15. 10. 06.
6. Injektion 22. 10. 06 2 ccm Serum intravenös und 1 ccm Serum subkutan.
27. 10. 06 fünfte Serumprüfung: Reaktion bei 1 : 1000 nach 10 Min.
Serum ist viel schwächer geworden.
7. Injektion 27. 10. 06 2 ccm Serum intravenös.
1. 11. 06 sechste Serumprüfung: Reaktion nach 15 Min. bei 1 : 10 000 positiv.

Kaninchen mit Menschenserum behandelt ($^1/_2$ Stunde auf 55° C.)

9. 10. 2,0 ccm intravenös
10. 10. 2,0 „ „
11. 10. 2,5 „ „
12. 10. 2,5 „ „
13. 10. 2,5 „ „
14. 10. 2,5 „ „
15. 10. 2,0 ccm intravenös
21. 10. Reaktion negativ
22. 10. 4,0 ccm intravenös
28. 10. 5,0 „ „
2. 11. keine Spur von Reaktion

Kaninchen mit Menschenblut (defibriniert) vorbehandelt (intraperitoneal).

21. 8. 15 ccm Blut intraperitoneal
1. 9. 20 „ „ „
5. 9. 20 „ „ „
9. 9. 20 „ „ „
14. 9. Reaktion negativ
16. 9. 20 ccm Blut intraperitoneal
19. 9. 20 „ „ „
23. 9. Reaktion negativ, jedoch starke Agglutinine auf Menschenblut.

Kaninchen mit Menschenblut (defibriniert) vorbehandelt (intraperitoneal).

1. 9. 20 ccm Blut intraperitoneal
5. 9. 20 „ „ „
9. 9. 20 „ „ „
16. 9. Reaktion negativ
16. 9. 10 ccm Blut intraperitoneal
19. 9. 20 „ „ „
23. 9. Reaktion negativ
28. 9. 20 ccm Blut intraperitoneal
2. 10. 20 „ „ „
6. 10. 20 ccm Blut intraperitoneal
13. 10. Reaktion kaum sichtbar
14. 10. 2,5 ccm Serum intravenös
15. 10. 2,5 „ „ „
20. 10. 2,5 „ „ „
25. 10. 3,5 „ „ „
28. 10. 3,0 „ „ „
(½ Stunde auf 55° C.)
2. 11. Reaktion negativ
7. 11. „ „

Kaninchen mit Menschenserum vorbehandelt.

6. 11. 2,5 ccm intravenös
10. 11. 2,5 „ „
18. 11. 4,0 „ „
21. 11. 5,0 „ intraperitoneal
25. 11. Reaktion negativ, nicht weiter behandelt.

Kaninchen mit Menschenserum behandelt.

17. 10. 03 1,5 ccm intravenös
18. 10. 03 2,5 „ „
21. 10. 03 2,5 „ „
23. 10. 03 2,5 „ „
28. 10. 03 Reaktion negativ
28. 10. 03 5,0 ccm intravenös
2. 11. 03 5,0 „ „
8. 11. 03 5,0 „ „
13. 11. 03 Reaktion negativ, nicht weiter behandelt.

Kaninchen VI weißgrau, mit Pferdeserum vorbehandelt.

1. Injektion 6. 10. 06 5 ccm intravenös mit Serum v. 4. 10. 06
2. „ 12. 10. 06 4 „ „ „ „ „ 11. 10. 06
3. „ 17. 10. 06 5 „ subkutan „ „ „ 16. 10. 06
22. 10. 06 Serumprüfung:
Reaktion bei 1 : 1000 nach 1 Min.
„ „ 1 : 10 000 „ 5 „
„ „ 1 : 20 000 „ 20 „
4. Injektion 22. 10. 06 2 ccm Serum intravenös,
2 „ „ subkutan } mit Serum v. 20. 10. 06.
27. 10. 06 zweite Serumprüfung:
Reaktion bei 1 : 1000 sofort
„ „ 1 : 10 000 nach 3 Min.
„ „ 1 : 20 000 nach 20 Min. angedeutet.
27. 10. 06 Kaninchen wird getötet.

Kaninchen II grau, mit Pferdeserum behandelt.

1. Injektion 6. 8. 06 5 ccm intravenös mit Serum v. 4. 8. 06
2. „ 11. 8. 06 5 „ „ „ „ „ 10. 8. 06
3. „ 15. 8. 06 5 „ „ „ „ „ 10. 8. 06
Am 21. 8. 06 etwa 3 ccm Serum abgenommen, geprüft am 23. 8. 06.
Serum noch nicht wirksam.
4. Injektion 23. 8. 06 5 ccm intravenös mit Serum v. 17. 8. 06
Am 30. 8. 06 Serum abgenommen und geprüft:
Serum schwach wirksam:
sofortige Trübung bei 1 : 1000
nach 10 Min. zarte Trübung bei 1 : 10 000
5. Injektion 1. 9. 06 5 ccm intraperitoneal mit Serum v. 30. 8. 06
Am 6. 9. 06 Serumprüfung.
Reaktion mit Pferdeserum deutlich: bei 1:1000 sofortige Trübung; bei 1:10000 nach 2 Minuten Trübung; bei 1:20000 nach 10 Minuten Trübung.

Die Reaktion mit angetrocknetem Pferdeblut ist nicht so deutlich: bei 1 : 1000 nur schwache Trübung nach mehreren Minuten.

6. Injektion 7. 9. 06 3 ccm intravenös mit Serum v. 7. 9. 06.

Am 12. 9. 06 Serumprüfung: Serum sehr gut.

Nach 15 Min. noch Trübung bei Serumverdünnungen von 1 : 100 000.

Bei der Prüfung mit angetrocknetem Blut ist die Wirksamkeit nicht so groß; Wirkung höchstens bis 1 : 20 000. Am 13. 9. 06 Kaninchen geschlachtet.

Kaninchen schwarz-weiß, mit Pferdeserum behandelt.

1. Injektion 6. 8. 06 5 ccm intravenös mit Serum v. 4. 8. 06
2. „ 11. 8. 06 5 „ „ „ „ „ 10. 8. 06
3. „ 15. 8. 06 5 „ „ „ „ „ 10. 8. 06

Am 21. 8. 06 etwa 3 ccm Serum abgenommen, geprüft am 23. 8. 06. Serum schwach wirksam: nach ½ Minute Trübung bei 1 : 1000; nach 15 Minuten Trübung bei 1 : 10 000.

4. Injektion 1. 9. 06 5 ccm intraperitoneal mit Serum v. 30. 8. 06

6. 9. 06 Serumprüfung im normalem Pferdeserum.

Trübung nach 15 Sek. bei 1 : 1000
„ „ 5 Min. „ 1 : 10 000
„ „ 15 „ „ 1 : 20 000

Prüfung mit angetrocknetem Pferdeblut:

Reaktion schwach aber deutlich nach 2 Min. bei 1 : 1000.

6. Injektion 7. 9. 06 ccm intravenös mit Serum v. 7. 9. 06

12. 9. 06 Serumprüfung:

1 : 100 000 nach 10 Min. schwache Trübung.

Eigentümlichkeiten des Serums: Dasselbe war sofort erstarrt; durch mehrfaches Umrühren gelang es einige Tropfen flüssigen Serums zu erhalten, dasselbe opaleszierte außerordentlich stark, wodurch die Präzipitinreaktion, besonders bei den höheren Verdünnungen, wesentlich beeinträchtigt wurde.

Da die Reaktion bei angetrocknetem Blute nur schwach war, wird das Kaninchen weiter behandelt.

7. Injektion 13. 9. 06 3 ccm intravenös Serum v. 13. 9. 06

Am 18. 9. 06 Serumprüfung:

Das Serum opalesziert, trotzdem das Kaninchen den Morgen noch nichts zu fressen bekommen hatte, es erstarrt auch sehr leicht.

Die Wirkung auf normales Pferdeserum ist außerordentlich stark, **selbst bei Verdünnungen von 1:100 Millionen nach 30 Minuten schwache, aber deutliche Trübung.**

Das Kaninchen bleibt 24 Stunden ohne Nahrung und wird am 19. 9. 06 geschlachtet.

Von 75 ccm Blut werden etwa 50 ccm Serum gewonnen.

Kaninchen P, mit Pferdeserum vorbehandelt.

14. 12. 04 3,0 ccm Serum intravenös
20. 12. 04 3,0 „ „ „
27. 12. 04 Reaktion 0
29. 12. 04 3,5 ccm Serum intravenös
3. 1. 05 5,0 „ „ „
10. 1. 05 Serum gut wirksam; Titer 1 : 20 000

Kaninchen +, mit Pferdeserum vorbehandelt.

26. 1. 05 5,0 ccm Serum intravenös
1. 2. 05 2,5 „ „ „
7. 2. 05 2,5 „ „ „
13. 2. 05 Serum sehr wirksam; Titer 1:20000; Kaninchen geschlachtet.

Kaninchen weiß, mit Pferdeserum behandelt.

1. 7. 10,0 ccm intraperitoneal.
15. 7. 3,5 ccm intravenös + 5 intraperitoneal + 5,0 subkutan.
20. 7. Reaktion nach ½ Std. angedeutet.
21. 7. 3,0 ccm intrav. + 10 ccm subkutan.
26. 7. Reaktion schwach.
28. 7. 10 ccm intravenös.
2. 8. Reaktion sehr schwach.
2. 8. 5,0 ccm intravenös.
9. 8. 8,0 „ „
14. 8. 5,0 ccm intravenös.
19. 8. Reaktion fast negativ.
18. 9. 7,0 ccm intravenös.
25. 9. 5,0 „ „
1. 10. 5.0 „ „
9. 10. 5,0 „ „
15. 10. 5,0 „ „ Reaktion 0.
22. 10. 4,0 „ subkut. Reaktion 0.

Kaninchen weißgelb, mit Pferdeserum vorbehandelt.

1. 10. 5,0 ccm intravenös.
9. 10. 5,0 „ „
13. 10. 5,0 „ „
19. 10. Serumprüfung. Reaktion nach 30 Min. 0.
17. 10. 4,0 ccm intravenös.
17. 11. 4,0 „ „
23. 11. Reaktion negativ, nicht weiter behandelt.

Kaninchen weiß-schwarz, mit Pferdeblut behandelt.

17. 1. 03 2½ ccm intravenös.
21. 1. 03 5,0 ccm „
26. 1. 03 5,0 „ subkutan, da Injektion in die Vene nicht gelang.
31. 1. 03 Serumprüfung. Reakt. neg.
31. 1. 03 10,0 ccm subkutan.
5. 2. 03 Reaktion schwach positiv, 10 ccm subkutan.
11. 2. 03 8,0 ccm intravenös.
17. 2. 03 20 „ intraperitoneal.
20. 2. 03 20 „ „.
28. 2. 03 20 „ „
3. 3. 03 Serum milchig.
4. 3. 03 20 ccm intraperitoneal.
4. 3. 03 Serum leicht opaleszierend.
8. 3. 03 Serumprüfung. Reaktion nach 5 Minuten 0.
8. 3. 03 10 ccm intraperitoneal.
14. 3. 03 Reaktion nach 5 Min. 0.
20. 3. 03 20 ccm intraperitoneal.
26. 3. 03 10 „ „
15. 4. 03 20 „ „ Blut.
21. 4. 03 Reaktion 0, nicht weiter behandelt.

Kaninchen blaugrau, mit Pferdeblut vorbehandelt.

15. 11. 02 2,5 ccm intraperitoneal. Serum aus dem Schlachthaus.
18. 11. 02 2,5 ccm intrap. dasselbe Serum.
21. 11. 02 5,0 „ do.
25. 11. 02 5,0 „ do.
29. 11. 02 10,0 „ do.
4. 12. 02 Prüfung. Abszeß am Bauch: von der letzten Impfung; Serum leicht opaleszierend. Reaktion schwach angedeutet.
5. 12. 02 10 ccm intrap., Absz. am Bauch!
11. 12. 02 Reaktion schwach. Serum stark opaleszierend, daher am 11. 12. nochmals 10 ccm intraperitoneal.
19. 12. Reaktion fast negativ.
19. 12. 10 ccm intraperitoneal.
24. 12. Reaktion fast negativ. Abszeß abgeheilt, Kaninchen munter.
24. 12. 10 ccm intravenös.
30. 12. 10 „ „
5. 1. 10 „ „ Reakt. fast neg.
10. 1. 10 „ „
16. 1. Reaktion negativ.
3. 2. 10 ccm intraperitoneal. Behandlung aufgegeben.

Kaninchen III, mit Schweineserum vorbehandelt.

1. Injektion 18. 9. 06 5 ccm intravenös mit Serum (Ferkel) vom 17. 9. 06.
2. „ 22. 9. 06 5 „ do „ 17. 9. 06.
3. „ 1. 10. 06 3 „ intravenös mit (altem) Serum „ 23. 12. 05.
2. 10. 06 Tier ist erkrankt an „Seuche".
6. 10. 06 Serumprüfung. Reaktion negativ.
4. Injektion 9. 10. 06 3 ccm intravenös mit (altem) Serum vom 23. 12. 05.
15. 10. 06 zweite Serumprüfung. Reaktion angedeutet.
5. Injektion 15. 10. 06 3 ccm alten Serums intravenös.
16. 10. 06 erkrankt an Kaninchenseuche.
22. 10. 06 dritte Serumprüfung. Serum ist sehr gut.
Sofortige Reaktion bei 1 : 1000 (intensiv).
nach 2 M. „ „ 1 : 10000 „
„ 5 „ „ „ 1 : 20000 „

Tier wird getötet und es werden ca. 70 ccm Blut steril der Brusthöhle entnommen.

Kaninchen I grau, mit Schweineserum vorbehandelt.

1. Injektion 18. 9. 06 5 ccm intravenös mit Serum (Ferkel) vom 17. 9. 06.
2. „ 22. 9. 06 5 „ do. „ 17. 9. 06.
3. „ 1. 10. 06 3 „ intravenös mit altem Serum „ 23. 12. 05.
6. 10. 06 Serumprüfung. Reaktion negativ.
4. Injektion 9. 10. 06 3 ccm intravenös mit altem Serum vom 23. 12. 05.
15. 10. 06 zweite Serumprüfung. Reaktion angedeutet.
5. Injektion 15. 10. 06 3 ccm intravenös mit altem Serum vom 23. 12. 05.
16. 10. 06 erkrankt an Kaninchenseuche.
22. 10. 06 dritte Serumprüfung. Serum ist gut.

Kaninchen wird getötet; es werden etwa 70 ccm Blut steril der Brusthöhle entnommen.

Kaninchen weiß, mit Schweineserum vorbehandelt.

11. 11. 02 2,5 ccm intrav. Serum.
14. 11. 02 2,5 ccm intrav. dass. Serum.
17. 11. 02 5,0 „ „ „ „
21. 11. 02 5,0 ccm intrav. dass. Serum.
27. 11. 02 Serumprüfung. Reaktion schwach positiv.
27. 11. 02 5,0 ccm intrav. dass. Serum.
2. 12. 02 zweite Serumprüfung. Reaktion stark positiv.

Kaninchen R, mit Schweineserum vorbehandelt.

7. 2. 03 10 ccm subkutan.
12. 2. 03 10 „ intrap.
16. 2. 03 10 „ „
21. 2. 03 10 „ „
27. 2. 03 10 „ „ Reaktion nach 5 Minuten schwach.
4. 3. 03 Reaktion nach 2 Minuten gut positiv 20 Blut abgenommen = 10 Serum.
7. 3. 03 Reakt. noch besser wie am 4. 3. konserv. mit Chloroform.
12. 3. 03 Reaktion noch deutlich.
18. 3. 03 Das Serum hat an Wirksamkeit sehr nachgelassen. Reaktion fast verschwunden.
20. 3. 03 10 ccm intrap.
25. 3. 03 Serum nicht gut wirksam, schlechter wie am 27. 2. 03.
25. 3. 03 20 ccm intrap.
Kaninchen vorzeitig gestorben.

Kaninchen mit Schweineserum vorbehandelt.

26. 1. 2,5 ccm intrav. Serum.
1. 2. 2,5 „ „ „
7. 2. 2,5 „ „ „
13. 2. Serum unwirksam.
7. 3. 2,5 ccm intrav. Serum.
14. 3. 2,5 „ „ „ dauernd negativ.

Kaninchen grau-weiß-schwarz, mit Rinderserum vorbehandelt.

1. Injektion 10. 8. 06 3 ccm intravenös mit Serum v. 8. 8. 06
2. „ 14. 8. 06 3 „ „ „ „ „ 8. 8. 06
3. „ 18. 8. 06 3 „ „ „ „ „ 17. 8. 06
23. 8. 06 Serumprüfung. Reaktion schwach, aber deutlich positiv nach 10 Min.
4. Injektion 23. 8. 06 3 ccm intravenös mit Serum v. 17. 8. 06
5. „ 29. 8. 06 3 „ „ „ „ „ 29. 8. 06
4. 9. 06 Serumprüfung: Serum ist gut.
bei 1 : 1000 sofortige Trübung
„ 1 : 10 000 nach 2 Min. Trübung
„ 1 : 20 000 „ 5 „ „
4. 9. 06 Tier geschlachtet.

Kaninchen mit Rinderserum vorbehandelt (täglich 1,0 ccm).

17. 6. 1,0 ccm Rinderserum
18. 6. 1,0 „ „
19. 6. 1,0 „ „
20. 6. 1,0 „ „
21. 6. 1,0 „ „
22. 6. 1,0 ccm Rinderserum
23. 6. 1,0 „ „
24. 6. 1,0 „ „
Serumprüfung am 1. 7. und 5. 7.: Serum völlig unwirksam.

Kaninchen II bunt, mit Hundeserum vorbehandelt.

1. Injektion 10. 8. 06 4 ccm intravenös mit Serum v. 10. 8. 06
2. „ 14. 8. 06 4 „ „ „ „ „ 10. 8. 06
3. „ 18. 8. 06 4 „ „ „ „ „ 17. 8. 06
4. Injektion 29. 8. 06 2,5 ccm intravenös mit Serum v. 17. 8. 06
4. 9. 06 Serumprüfung. Reaktion angedeutet, schwach positiv bei 1:1000 nach 5 Minuten.
5. Injektion 4. 9. 06 2,5 ccm intravenös mit Serum v. 30. 8. 06.
8. 9. 06 zweite Serumprüfung. Reaktion angedeutet wie am 4. 9. 06.
6. Injektion 8. 9. 06 2.5 ccm intravenös mit Serum v. 8. 9. 06.
7. „ 13. 9. 06 2,5 „ „ „ „ „ 13. 9. 06.
19. 9. 06 dritte Serumprüfung. Nach 2 Minuten schwache aber deutliche Reaktion bei 1:1000.
8. Injektion 19. 9. 06 2,5 ccm intraperitoneal mit Serum v. 18. 9. 06
25. 9. 06 vierte Serumprüfung: derselbe Befund wie am 19. 9. 06.
9. Injektion 25. 9. 06 2,5 ccm intravenös mit Serum v. 25. 9. 06
2. 10. 06 fünfte Serumprüfung: Reaktion immer noch sehr schwach.
10. Injektion 3. 10. 06 2,5 ccm intravenös mit Serum v. 29. 9. 06
Serum sehr schwach. Behandlung aufgegeben.

Kaninchen mit 4 Jahre altem angetrocknetem Rehblut vorbehandelt.

14. 1. 05 2,5 ccm gesättigte Lösung in NaCl intravenös.
19. 1. 05 2,5 ccm intrav.
28. 1. 05 2,5 „ „
2. 2. 05 Reaktion schwach pos. 1 : 1000.
9. 2. 05 2 ccm intrav.
15. 2. 05 Reaktion 1 : 20000 positiv. Tier geschlachtet.

Hund mit Menschenserum behandelt.

3. 11. 03 5,0 ccm intrav.
8. 11. 03 8,0 „ intrap.
12. 11. 03 10 „ „
27. 11. 03 10 „ „
7. 12. 03 7 „ „
13. 12. 03 Serum unwirksam.
14. 1. 03 50 ccm Exsudat intrap.
18. 1. 03 50 „ „ „
24. 1. Serum unwirksam.

Kaninchen mit Hühnerserum vorbehandelt.

7. 2. 03 2,0 ccm intrav.
11. 2. 03 2,0 „ „
14. 2. 03 3,0 „ „
} desselb. Blutes.
20. 2. 03 Reaktion 1 : 10000.
20. 2. 03 Tier geschlachtet.

5. Unterbringung und Beobachtung der Versuchstiere.

Um Verwechslungen zu vermeiden, müssen die einzelnen Tiere genau bezeichnet werden. Uhlenhuth schert den Kaninchen Buchstaben auf den Rücken ein, und zwar der Übersichtlichkeit halber den Anfangsbuchstaben der Art des eingespritzten Materials. Die Buchstaben müssen von Zeit zu Zeit nachgeschoren werden. Nuttall empfiehlt mit chinesischer Tusche die zarte weiße Innenfläche der Kaninchenohren zu tätowieren. Von anderen Autoren werden nummerierte Ohrmarken vorgeschlagen; da diese aber leicht herausfallen können, so ist Vorsicht geboten. Die genau gekennzeichneten Tiere werden am besten in ein-

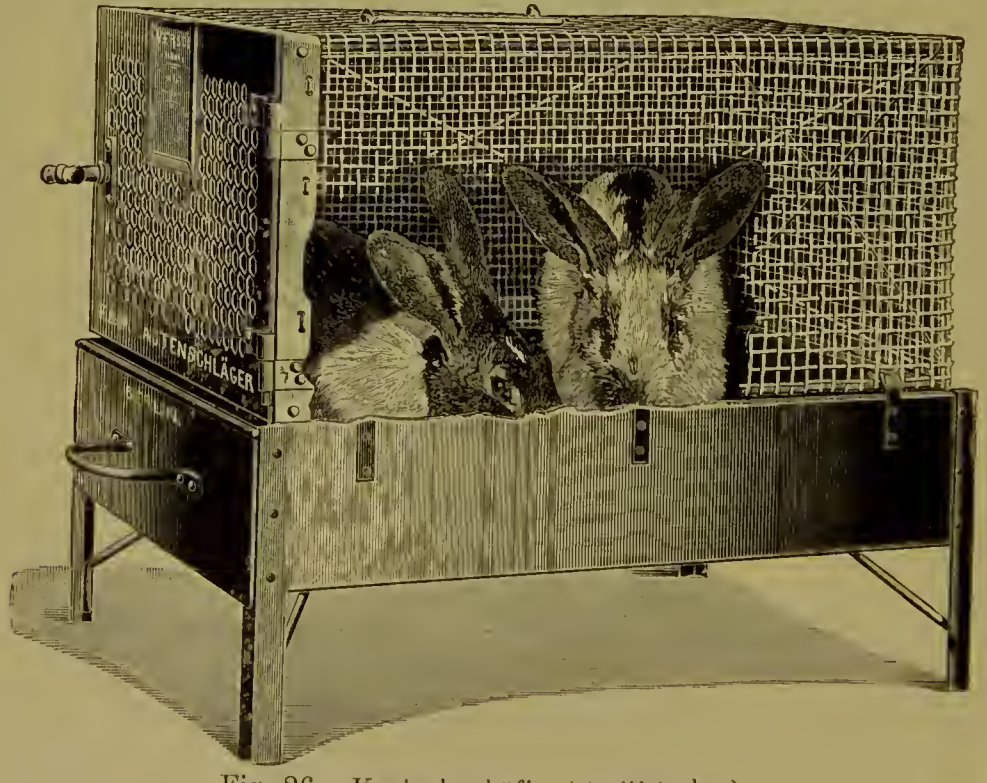


Fig. 26. Kaninchenkäfig (sterilisierbar).

zelnen Käfigen untergebracht. Es sind Käfige aus Eisendraht und Blech zu empfehlen, weil sie im ganzen im Desinfektionsapparat sterilisiert werden können. Für diese Käfige (Fig. 26) gibt es passende Gestelle

aus Eisenrahmen, so daß ganze Reihen übereinander gestellt werden können und daher verhältnismäßig wenig Platz beanspruchen. Der als Schublade herausnehmbare Boden des Käfigs wird mit Torfmull oder Sägespänen belegt, um den Urin aufzusaugen. Das Futter- und Wassergefäß kann entweder an den Seiten oder an der Innenseite der vorderen Schubladenwand angebracht werden.

Um eine genaue Beurteilung des Körperzustandes der im Versuch befindlichen Kaninchen zu ermöglichen, ist es empfehlenswert, wenn auch nicht notwendig, sie regelmäßig zu wiegen. Zu diesem Zwecke bedienen wir uns der Wage nach DUENSCHMANN (Fig. 27). Gewöhnlich haben wir bei großen und kräftigen Tieren höchstens nach der ersten Injektion eine geringe Gewichtsabnahme konstatieren können; die Tiere erholten sich aber sehr schnell wieder, so daß sie ihr ursprüngliches Gewicht bald überschritten hatten. In einzelnen Fällen konnten wir aber eine beständige Abmagerung nachweisen. Trotzdem lieferten solche Tiere häufig ein hochwertiges Serum. Aus dem Verhalten des Körpergewichts lassen sich im allgemeinen keine Schlüsse auf das Verhalten der Antikörperbildung ziehen.

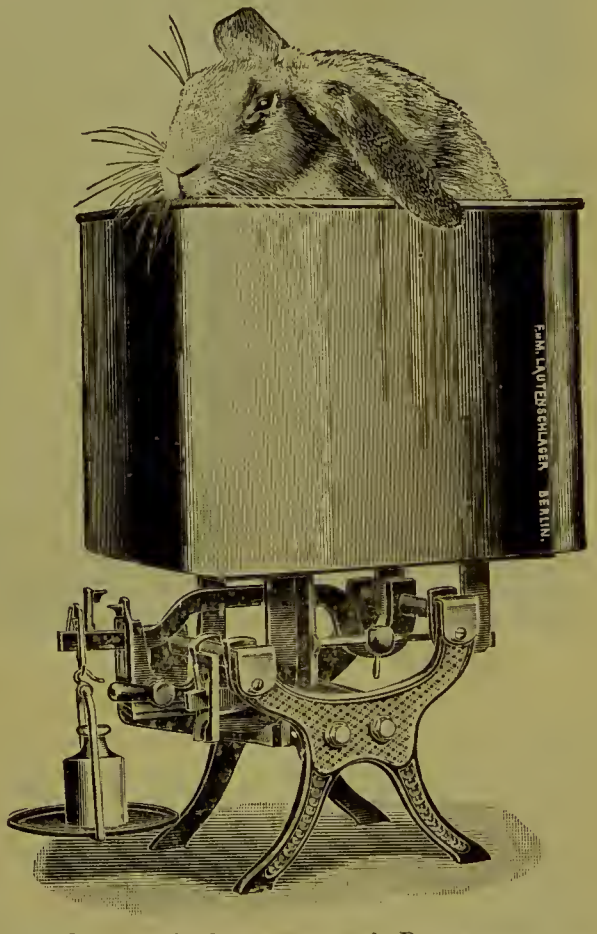


Fig. 27. Kaninchenwage nach DUENSCHMANN.

6. Probeblutentnahme zwecks Serumprüfung.

Um festzustellen, wann die Kaninchen ein für die Praxis brauchbares Serum liefern, ist es notwendig, in gewissen Intervallen das Blut dieser Tiere auf seinen Präzipitingehalt zu untersuchen. Wie bereits aus dem oben Gesagten hervorgeht, tritt dieser Zeitpunkt bei gleicher Vorbehandlung der Kaninchen, bei den einen früher, bei den anderen später oder gar nicht ein. Auf Grund umfangreicher Untersuchungen von UHLENHUTH und BEUMER hat es sich als zweckmäßig erwiesen nach der dritten Injektion eine Probeblutentnahme vorzunehmen und zwar hat diese in dem Augenblick stattzufinden, in welchem der Tierkörper auf dem Höhepunkt der Präzipitinbildung steht, d. h. etwa am siebenten Tage nach der letzten Einspritzung. In zahlreichen Fällen haben wir bereits bei dieser ersten Prüfung ein hochwertiges Antiserum feststellen können. In anderen Fällen haben wir, wie aus den angeführten Protokollen ersichtlich ist, erst nach der fünften oder sechsten Injektion ein brauchbares Antiserum erhalten.

Die Probeblutentnahme der Kaninchen geschieht in folgender Weise: Zur Erzeugung einer Hyperämie wird das Ohr des Kaninchens am Grunde der Ohrwurzel mit einem in heißes Wasser getauchtem Watte-

bausch bedeckt, oder es wird das Ohr mit der Schere leicht geklopft; sehr wirksam ist auch das Betupfen des Ohres mittels eines mit Xylol getränkten Wattebausches. Auf diese Weise gelingt es leicht, ein deutliches Hervortreten besonders der Randvenen zu erzielen. Jetzt wird das Ohr über den Finger gespannt und mit einer Cooperschen Schere ein etwa linsengroßes Stück der über einer Vene befindlichen Haut weggeschnitten. Das deutlich hervortretende Gefäß wird mit einer sterilen Schere eingeschnitten, und das herausfließende Blut in einem sterilen Reagenzglas aufgefangen (Fig. 28). Hat man auf diese Weise genügend Blut erhalten, so muß man zur Vermeidung von Nachblutungen das Gefäß mit dem Fingernagel zukneifen oder durch angedrückte Watte eventuell auch mittels einer Klemme komprimieren. Hin und wieder ist die Nachblutung so erheblich, daß eine Umstechung des Gefäßes notwendig ist. Sehr vorteilhaft ist es auch, das Blut aus einer Ohrarterie zu entnehmen; man gewinnt dabei viel schneller das gewünschte Quantum Blut; das so gewonnene Serum ist meist viel weniger hämoglobinhaltig. Die Blutstillung hat in diesen Fällen immer durch Umstechung zu erfolgen. Kister und Wolff empfehlen, den Kaninchen Blut aus der an der Innenseite des Oberschenkels oberflächlich verlaufenden Arterie zu entnehmen. Unserer Erfahrung nach ist das viel schwieriger und daher nicht empfehlenswert. Für die Voruntersuchung genügen etwa 3 ccm Blut; dieses wird, um möglichst viel Serum zu erhalten, in den Reagenzröhrchen schräg gelegt, da dann das Serum besser ausgepreßt wird. Aus demselben Grunde wendet Nuttall Petrischalen an. Das schon nach wenigen Stunden abgeschiedene Serum wird dann mit einer Kapillarpipette (siehe oben) vorsichtig aufgesogen und in ein spitzes Zentrifugenröhrchen übergefüllt. Benutzt man alte, durch häufiges Sterilisieren rissig gewordene Reagenzröhrchen, so haften gewöhnlich die sich bildenden Blutgerinnsel in großer Ausdehnung der Wand an und müssen, da sonst ein unvollkommenes Auspressen des Serums stattfindet, gelöst werden. Es geschieht das zweckmäßig mit Hilfe eines ausgeglühten gut erkalteten Platinspatels. Wird das Gerinnsel bei der Ablösung gequetscht oder ist der Spatel nicht genügend abgekühlt, so erhält man durch das in Lösung gegangene Hämoglobin ein mehr oder

Fig. 28. Probeblutentnahme vom Kaninchen.

weniger rot gefärbtes Serum. Hauser meint, daß die Anwesenheit von frischem Hämoglobin auf den Eintritt der Reaktion hemmend wirke und glaubt die Tatsache, daß die Niederschlagbildung in schwach gelblich gefärbten Blutlösungen viel intensiver auftritt als in schwach rötlich gefärbten, hierauf zurückführen zu müssen. Nach Kister und Wolff beruht das darauf, daß die rötlich gefärbten Blutlösungen die Reaktion viel weniger deutlich erkennen lassen als die farblosen. Wenn wir auch eine nennenswerte geringere Wirksamkeit von solchem Serum im allgemeinen nicht beobachtet haben, so ist es immerhin doch ratsam, ein möglichst farbloses Serum für die biologische Reaktion zu gewinnen. Zur Zentrifugierung des durch die Probeblutentnahme gewonnenen Serums verwendet man am besten eine in jedem Laboratorium leicht anzubringende Wasserzentrifuge (Fig. 29). Gibt das so gewonnene klare Serum eine Reaktion (auf die wir später noch ausführlich eingehen werden), die sofort oder nach wenigen Minuten in farblosen, aus eingetrocknetem Blut mit Kochsalzlösung hergestellten homologen (nicht in heterologen) Blutlösungen (1:1000) in unzweideutiger Weise eintritt, so kann das Antiserum als praktisch brauchbar angesehen werden.

Fig. 29. Wasserzentrifuge nach Jung.

7. Definitive Blutentnahme und Serumgewinnung.

Für die Blutentnahme sind verschiedene Verfahren empfohlen worden. Nach Uhlenhuth geht man in folgender Weise vor:

Das Tier wird tief chloroformiert und auf ein Brett gespannt. Nachdem die Brust- und Bauchfläche mit Alkohol befeuchtet ist — um Verunreinigungen durch Haare zu vermeiden —, werden durch einen medianen Längsschnitt die Weichteile getrennt, der Brustkorb freigelegt und die vordere Brustwand entfernt. Bei den letzten schwachen Schlägen des Herzens wird das Herz angeschnitten. Das Tier entblutet in die Brusthöhle. Mit einer sterilen etwa 20 ccm fassenden Pipette, die, um ein Verstopfen mit Blutgerinnseln zu vermeiden, mit einer recht weiten unteren Öffnung versehen sein muß, wird das Blut aufgesogen und in einen Blutzylinder gefüllt. Auf diese Weise gewinnt man 70—80 ccm Blut; kräftige Tiere liefern bis zu 110 ccm.

Ein anderes Verfahren der Serumgewinnung ist von Ziemke angegeben: Das Tier wird in Rückenlage auf ein Brett aufgespannt, die Halsschlagader der einen Seite freigelegt, isoliert und doppelt abgeklemmt. Nun führt man entweder in den abgeklemmten Teil eine stumpfwinklig gebogene sterilisierte Glaskanüle, die man sich selbst herstellt, ein, oder man durchschneidet die Karotis ohne weiteres und fängt das Blut nach

Lösung der zentral gelegenen Klemme in einer sterilen Schale auf, in welcher es bis zur Abscheidung des Fibrins geschlagen wird. Man hat bei diesem Vorgehen den Vorteil, durch rhythmische Kompressionen des Herzens für ein möglichst vollständiges Ausbluten sorgen zu können.

Nuttall verfährt — nachdem das Fell des Tieres am Halse mit Lysol gewaschen ist — in der Weise, daß er die großen Halsgefäße mit einem Schnitt durchtrennt und das Blut in einer flachen Schale auffängt. Schulz tötet die Tiere bei hängendem Kopf durch Halsschnitt.

Zur Gewinnung der spezifischen Sera ist es nach den Angaben einiger Autoren keineswegs nötig, die Tiere, die ein brauchbares hochwertiges Serum liefern, zu töten; sie empfehlen, für jede Untersuchung die notwendige Serummenge aus der Ohrvene zu entnehmen. Um ein Zurückgehen des Seruntiters zu vermeiden, ist es erforderlich, die Tiere in gewissen Intervallen weiter zu injizieren.

Ohne die Tiere zu töten und ohne offenkundige Schädigung derselben zu beobachten, entnahmen Kister und Wolff aus der Karotis 40—50 ccm Blut und gewannen so auch für größere Versuchsreihen ausreichende Mengen von Serum. Unserer Erfahrung nach muß jedoch von einem derartigen Vorgehen dringend abgeraten werden, da wir häufig bei weiterer Behandlung ein völliges Zurückgehen des Serumtiters haben beobachten können. Die Kaninchen sind stets zu entbluten, sobald das Serum sich als brauchbar erwiesen hat.

Nach Nuttall bleibt das in einer großen Schale aufgefangene Blut mehrere Stunden stehen; bei seiner Gerinnung sammelt sich das Serum an der Oberfläche. Um das Serum abpipettieren zu können, wird die Schale schräg gestellt. Ohne Filtration und ohne irgend welchen Zusatz wird das Serum in sterile, an beiden Seiten ausgezogene Glasröhrchen (Fig. 34, pag. 214) gefüllt. Diese Röhrchen sind nach Nuttall deshalb sehr praktisch, weil ein sich etwa bildender Eiweißniederschlag durch einfaches Abbrechen der Spitze entfernt werden kann. W. A. Schmidt benutzt ähnliche Röhrchen, die aber nur an einer Seite zu einer Spitze ausgezogen sind.

Nach Angabe von Uhlenhuth erfolgt die Serumgewinnung am besten bei Anwendung folgender Methode:

Das in Blutzylinder gefüllte Blut bleibt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur etwa 24 Stunden stehen. Es hat sich dann meist ein farbloses, klares Serum abgesetzt, welches, mit einer sterilen Pipette in sterile Reagenzgläser übertragen wird. Um das in dem Zylinder zurückbleibende Blut nach Möglichkeit auszunutzen, wird der Blutkuchen, zweckmäßig durch Belasten mit einem sterilen Gewicht ausgepreßt. Haftet das Gerinnsel an einigen Stellen der Wandung des Glases an, so wird es mit einem Spatel, dessen Krümmung der Wölbung des Zylinders entspricht, vorsichtig abgelöst. Das erhaltene Serum wird durch Absitzenlassen oder Zentrifugieren von korpuskulären Elementen befreit.

8. Notwendige Eigenschaften präzipitierender Sera.

Ein brauchbares Antiserum soll folgende Eigenschaften haben:

a) es soll absolut klar und steril sein; es darf nicht opalescieren,

b) es soll hochwertig sein,

c) es soll artspezifisch sein.

Es ist daher jedes Antiserum auf diese Eigenschaften sorgfältig zu prüfen.

a) Klärung und sterile Filtration des Antiserums.

Um absolute Klarheit und Sterilität des Serums zu erreichen, empfehlen wir die Filtration mittels steriler BERKEFELDscher Filter.

Da eine sterile Filtration, obwohl sie von einem geübten Bakteriologen leicht auszuführen ist, einem weniger Geübten gewisse Schwierigkeiten verursacht, so soll eine genaue Beschreibung und Anleitung hier gegeben werden.

Bei der von uns angewandten Serumfiltriervorrichtung hat man drei Teile zu unterscheiden

1. die Kieselgurkerze,
2. die Saugflasche,
3. die Saugpumpe.

Die Kerzen, die aus Kieselgur (Infusorienerde) bestehen (Liliputkerzen 6,0 cm lang, 1,5 cm Durchmesser), sind auf einem Metallansatz mit einer Verschraubung befestigt und schließen durch einen Gummiring den Glaszylinder völlig dicht ab.

Um jede Fehlerquelle zu vermeiden, ist es empfehlenswert, zur Filtration von Antiserum jedesmal eine neue Kerze zu verwenden, weil bei dieser die Poren noch nicht verlegt sind, was einen möglichst geringen Verlust an wirksamen Präzipitinen gewährleistet. Die in jeder neuen Kerze stets vorhandenen Schmutzteilchen werden zuerst durch gewöhnliche und umgekehrte Filtration (s. unten) mit steriler Kochsalzlösung entfernt. Darauf wird die Kerze in destilliertem Wasser ausgekocht, wobei man, ebenso wie bei der nachfolgenden Sterilisation darauf zu achten hat, daß die Schraube am Glaszylinder nicht fest angezogen ist, da sonst der Glaszylinder leicht zerspringt. Die ausgekochte Kerze (*a*) wird durch einen Gummipfropfen auf die Saugflasche (*b*) gesteckt. Die Öffnungen der Saugflasche, sowie die obere Öffnung des Umhüllungszylinders werden mit Watte verstopft; darauf findet eine etwa zweistündige Sterilisation im strömenden Wasserdampf statt. Nach dem Erkalten der Kerze und nach dem Anziehen der Schraube am Glaszylinder mit steriler Pinzette kann die Filtration vorgenommen werden.

Nach der früher von uns angewandten Methode (Fig. 30) wurde in die Saugflasche ein steriles Reagenzglas gestellt, in welches das Serum nach der Filtration hineintropfte. Hierauf wurde dann nach Abnehmen des Gummistopfens das Reagenzglas mit einer sterilen Pinzette herausgenommen und mit einem abgebrannten Wattebausch verschlossen. Ehe das Filtrat in kleine Röhrchen, wie wir sie für die Abgabe benutzen, abgefüllt werden konnte, mußte es, um festzustellen, ob es vollständig klar blieb, mehrere Tage bei Zimmertemperatur in den großen Reagenzgläsern stehen bleiben. Trübte sich der Inhalt, so wurde die Filtration wiederholt; blieb das Serum dagegen klar, so wurde es mit einer sterilen Pipette in kleine braune Röhrchen (s. Fig. 33) zu 1 ccm abgefüllt. Die mit Watte verschlossenen Röhrchen wurden abermals einige Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt; war ihr Inhalt klar geblieben, so wurden sie über der Flamme zugeschmolzen.

Trotz großer Vorsicht ist es uns auf diese Weise in vielen Fällen nicht gelungen, gleich bei der ersten Filtration ein steriles Filtrat zu erhalten.

Es ist das doppelt unangenehm, denn eine wiederholte Filtration beeinträchtigt die Wirksamkeit des Serums oft in erheblichem Maße und es geht auch ein nicht geringer Teil des kostbaren Serums dabei verloren.

Die Nachteile der geschilderten Filtrationsmethode beruhen auf dem mehrfachen Öffnen der Saugflasche während der Filtration und auf der Schwierigkeit der sterilen Herausnahme des Filtrats.

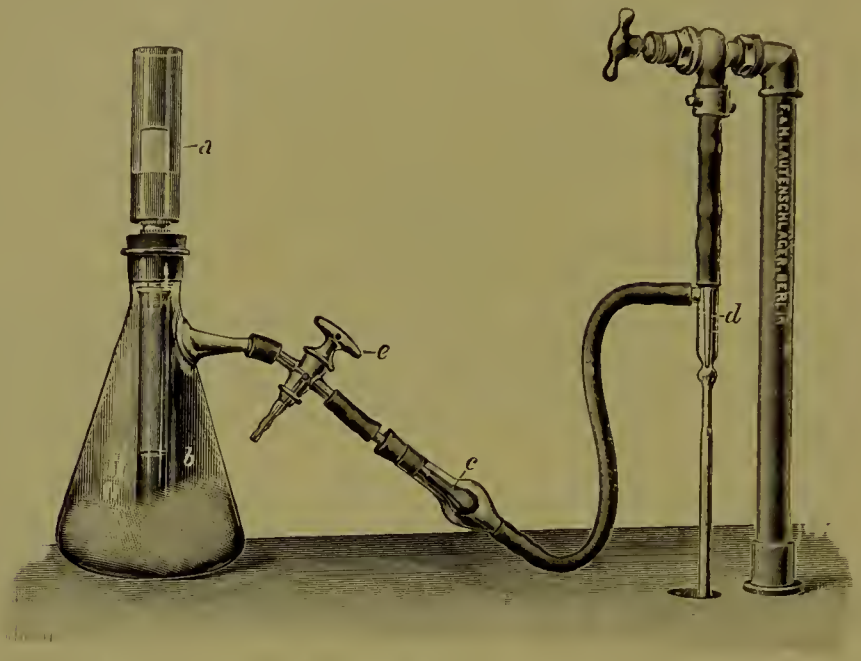


Fig. 30. Alte Methode der sterilen Serumfiltration.

Diese Mängel sind durch einen neuen Apparat (Fig. 31) vollständig beseitigt.

Der **Filtrierabfüllapparat**, der im wesentlichen eine Kombination des Maassenschen Bakterienfiltrierapparats und des Lymphabfülltrichters (Modell der Königl. Preuß. Anstalten zur Gewinnung animalischer Lymphe) darstellt, besteht aus der Berkefeldschen Kerze (*a*), die mittels eines Gummistopfens mit der Saugflasche (*b*) in Verbindung steht. Diese zeigt dicht unter dem Halse ein Ansatzrohr, das mit einer Kugel behufs Aufnahme von Watte versehen ist; in derselben befindet sich außerdem noch eine zweite Glaskugel, die kleine nach der Saugflasche zu gerichtete Öffnungen besitzt und dadurch ein direktes Hineinströmen von Luft in die Saugflasche verhindern soll. Das Ansatzrohr steht mit der Wasserstrahlpumpe (*d*) in Verbindung. Zur Vermeidung des Hineindringens von Wasser in die Saugflasche ist das Rückschlagventil (*c*) eingeschaltet, und zur Regulierung des Luftdrucks in der Saugflasche dient der Dreiwegehahn (*e*). Der Abfüllhahn (*f*) ist mit einer umschmolzenen Hülle versehen und zeigt außerdem eine glockenförmige Erweiterung, die es gestattet einen Bausch Watte einzuführen, der die Drehung des Hahnes nicht hindert, wohl aber ein Eindringen etwaiger Luftkeime verhindert. Mit dem Abfüllhahn steht das genau graduierte Röhrchen (*h*), das oben behufs Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist, in Verbindung. Der Abfüllhahn (*f*) ist so eingerichtet, daß auch mit Umgehung des Röhrchens (*h*) das Filtrat direkt abgefüllt werden kann. Das Ausflußrohr (*g*) ist von einer angeschmolzenen Glasglocke umgeben, sie hat

den Zweck, einmal durch Verschließen der Glasglocke mittels Watte das Abflußrohr vor Infektion zu schützen und außerdem beim Abfüllen des sterilen Filtrats das Hineinfallen von Luftkeimen in die Abfüllröhrchen zu verhindern.

Die Filtration wird nun in der Weise ausgeführt, daß, nachdem das zu filtrierende Serum in den Zylinder der Kerze gegossen ist, die Saugpumpe langsam angestellt wird. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Dreiwegehahn (*c*) zwischen Saugflasche und Saugpumpe (*d*) richtig eingestellt ist; es ist das der Fall, wenn der Knebel des Hahns in der Richtung der beiden Ansatzröhren verläuft. Um die ersten Kubikzenti-

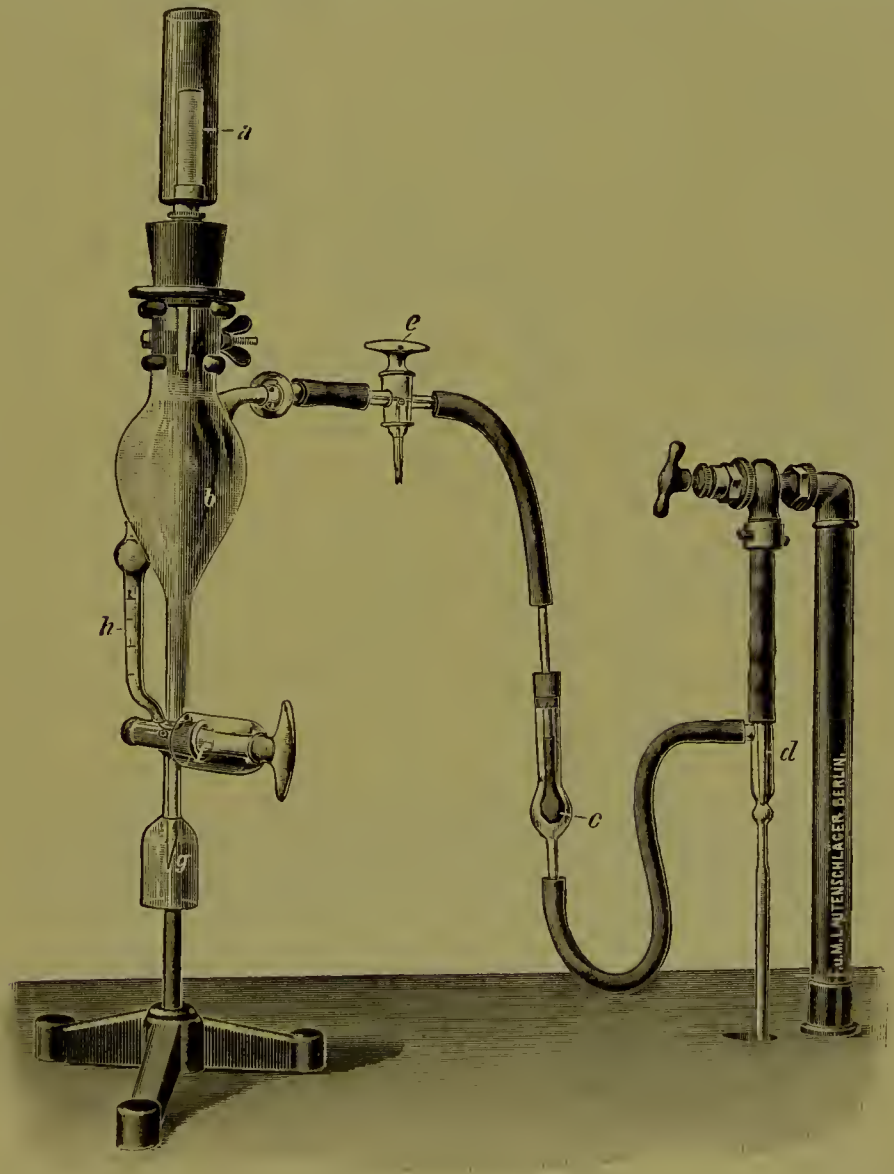


Fig. 31. Filtrierabfüllapparat nach Uhlenhuth und Weidanz.

meter des Filtrats, die vorzugsweise aus Wasser bestehen, welches beim Auskochen und Sterilisieren der Kerze in derselben zurückgeblieben ist, zu beseitigen, muß die Saugpumpe ausgeschaltet und die Differenz des Luftdruckes zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft wieder ausgeglichen werden, beides wird erreicht durch Drehung des Hahns um 90° nach rechts. Nachdem durch Öffnen des Abfüllhahnes (*f*) der Saugflasche das unbrauchbare Filtrat entfernt ist, wird die Filtration wieder aufgenommen.

Ist die zu filtrierende Flüssigkeit in dem Umhüllungszylinder bis zu dem Metallansatz der Kerze gesunken, so wird, um restlos filtrieren zu können, die Flüssigkeit mit einer zu einer Kapillare ausgezogenen Glasröhre aufgesaugt und auf die Kerze geträufelt. Nach W. A. Schmidt kann man auch in der Weise verfahren, daß man den Glaszylinder bis zum oberen Rande des Metallansatzes der Kerze mit Glasküge1chen anfüllt und auf diese Weise die Flüssigkeit zum Steigen bringt. Ferner kann man auch über die Kerze ein Reagenzglas stülpen, das bis auf den Boden des Glaszylinders reicht. Durch die noch in dem Zylinder vorhandene Menge Flüssigkeit wird die Öffnung des Reagenzglases abgeschlossen; es bildet sich bei weiterem Saugen zwischen Kerze und Reagenzglas ein luftverdünnter Raum, die Flüssigkeit steigt infolgedessen, benetzt den porösen Teil der Kerze und wird fast vollständig aufgesaugt. Nachdem das Serum filtriert ist, wird die Filtration in der angegebenen Weise wieder abgestellt. Die Filtration unter zu hohem negativen Druck, die sich durch starke Schaumbildung kenntlich macht, ist mit Hilfe des Dreiwegehahnes (*e*) leicht zu vermeiden, indem man durch Drehen des Hahnes nach rechts etwas Luft in die Saugflasche einströmen läßt. Das quantitative Abfüllen des klaren Filtrates wird folgendermaßen ausgeführt: Der Abfüllhahn (*f*) wird so gedreht, daß eine Kommunikation zwischen der Saugflasche und dem Röhrchen (*h*) hergestellt wird; ist das erreicht, so steigt das Filtrat in *h* in die Höhe, vorausgesetzt, daß der obere Watteverschluß des Röhrchens nicht zu dicht ist. Sollte das der Fall sein, so muß er auf sterile Weise etwas gelockert werden. Hat man so das gewünschte Quantum abgefüllt, so wird durch Drehung des Abfüllhahnes die Verbindung mit der Saugflasche unterbrochen, dagegen mit dem Abflußrohr (*g*) hergestellt und das abfließende Serum zu je 1 ccm in die einzelnen sterilen Röhrchen abgefüllt. Ist das Filtrat bis zu dem unteren röhrenförmig ausgezogenen graduierten Ende der Saugflasche gesunken, so wird der Abfüllhahn so gedreht, daß mit Umgehung des Röhrchens (*h*) direkt abgefüllt wird und somit kein Tropfen von dem oft kostbaren Filtrat verloren geht. Wir haben bei dieser Filtration sehr gute Resultate erzielt. Bei unvollkommener Dichtung des Abfüllhahnes steigen jedoch bei der Filtration Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit auf.

Um nun den Abfüllhahn bei der Filtrierabfülleinrichtung ganz auszuschalten, haben wir folgende Modifikation (Fig. 32) angewandt: Die Saugflasche (*b*) steht hier mittels eines Druckschlauches mit dem genau graduierten Röhrchen (*h*) in Verbindung. Dieses hat an seinem oberen Ende ein seitliches Ansatzrohr (*i*), dessen obere Öffnung zwecks Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist. Röhrchen *h* steht an seinem unteren Ende durch einen Druckschlauch mit dem mit angeschmolzener Glasglocke umgebenen Ausflußrohr (*g*) in Verbindung. Durch zwei Schraubenquetschhähne kann die Verbindung zwischen Saugflasche und Röhrchen *h* einerseits und zwischen Abflußrohr *g* und Röhrchen *h* andererseits unterbrochen werden.

Vor der Filtration ist der obere Quetschhahn so fest anzuziehen, daß bei der Filtration keine Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit aufsteigen. Ist die Filtration in der oben beschriebenen Weise vollendet und die Luftdruckdifferenz zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft ausgeglichen, so wird nach Schließen des unteren Quetschhahnes der obere geöffnet und das gewünschte Quantum in Röhrchen *h* abgefüllt.

Hierbei ist darauf zu achten, daß der Watteverschluß des Ansatzröhrchens (*i*) nicht zu dicht ist, damit beim Herabfließen des Filtrates die im Röhrchen *h* befindliche Luft entweichen kann. Durch vorsichtiges Öffnen des unteren Quetschhahnes kann nunmehr genau quantitativ das Filtrat abgefüllt werden.

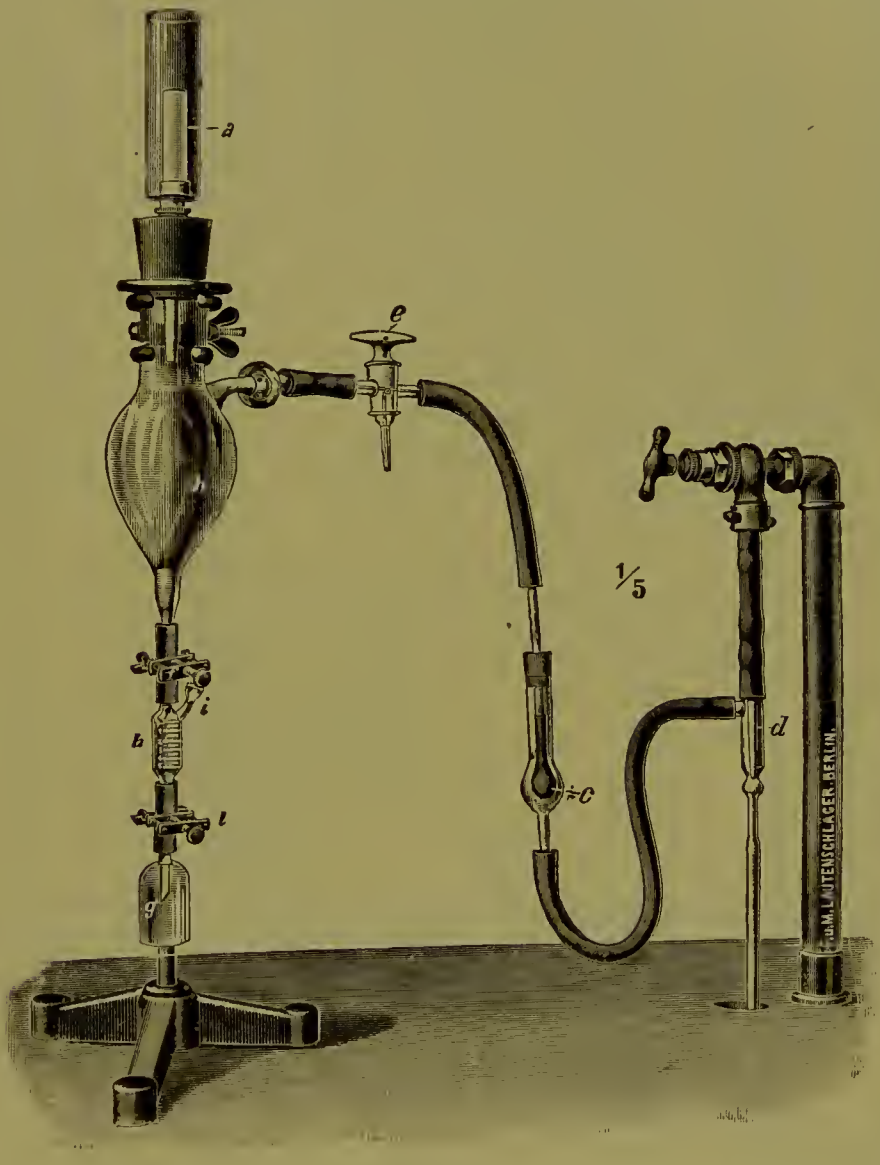
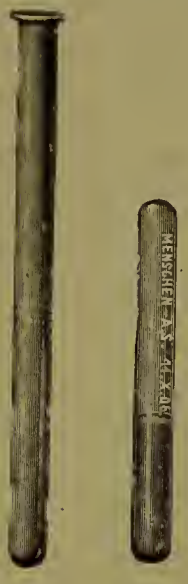


Fig. 32. Modifizierter Filtrierabfüllapparat nach UHLENHUTH und WEIDANZ.

Diese Modifikation des Filtrierapparates hat folgende Vorzüge:

1. Man kann sich den Apparat selbst zusammensetzen und unbrauchbar gewordene Stücke leicht ergänzen;
2. Man kann selbst größere Mengen genau quantitativ abmessen, da die graduierten Röhrchen in den verschiedensten Größen zu erhalten sind;
3. Man kann bei nicht quantitativem Abfüllen das Abflußrohr durch Druckschlauch direkt mit der Saugflasche verbinden.

Zum **Abfüllen des Antiserums** verwenden wir, wie bereits erwähnt, zweckmäßig braune, aber vollkommen klare Röhrchen von etwa 12,5 cm Länge und 0,7 cm Durchmesser (Fig. 33 *a*). Die Länge ist deshalb so groß gewählt, um die Röhrchen nach dem Öffnen eventl. wieder zuschmelzen zu können.



a *b*

Fig. 33. Serumabfüllröhrchen nach Uhlenhuth.

Ehe die Röhrchen gebrauchsfertig sind, müssen sie sorgfältig gereinigt, mit destilliertem Wasser nachgespült und an der Luft getrocknet werden. Mit Wattestopfen versehen kommen sie zur Sterilisation eine Stunde lang in den Trockensterilisierungsschrank bei etwa 150° C. Zum Abfüllen des Serums wird das einzelne Röhrchen, nachdem der Wattestopfen abgenommen, mit dem Hals durch die Flamme gezogen und vorsichtig unter die dem Abflußrohr angeschmolzene Glasglocke (*g*) gebracht. Die mit abgebrannten Wattestopfen verschlossenen Röhrchen werden dann bei Zimmertemperatur mehrere Tage aufbewahrt und falls das Antiserum vollkommen klargeblieben und durch eine genaue Titerbestimmung die Wertigkeit des Serums festgestellt ist, zugeschmolzen*). Sodann werden die einzelnen Röhrchen mittels Glasätztinte genau bezeichnet (Fig. 33 *b*).

Nuttall, Fiehe u. a. bedienen sich ausgezogener Kapillaren zur Aufbewahrung des Serrms.

Das Einfüllen geschieht nach Fiehe durch Saugen bei C. Die Glasröhre, welche 1 ccm faßt und an beiden Enden in Kapillaren ausgezogen ist, wird nach der Füllung bei *a* und *b* zugeschmolzen.

Fig. 34. Nuttallsches Röhrchen zum Aufbewahren von präzipitierenden Seris.

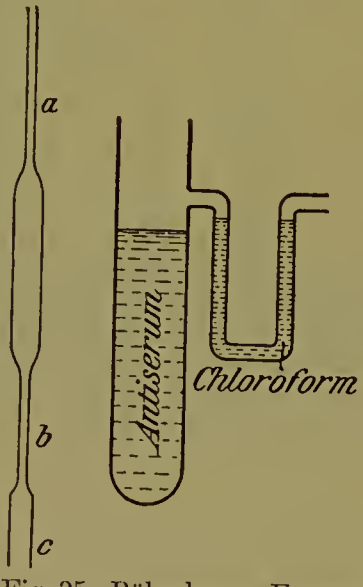


Fig. 35. Röhrchen n. Fiehe.

Fiehe benutzt zur Aufbewahrung größerer Mengen von Antiserum ein ca. 10 ccm fassendes Reagenzröhrchen, welches in $^2/_3$ Höhe einen U-förmig gebogenen Seitenarm besitzt. Der Seitenarm wird mit Chloroform gefüllt und verschlossen. Es steht das Serum so immer unter Chloroform und soll nach Fiehe lange steril bleiben. Eine Entnahme darf natürlich nur mit steriler Pipette erfolgen. Die obere Öffnung des Gläschens wird mit Wattebausch und Gummikappe verschlossen.

Nach Beendigung der Filtration hat man die Kerzen sofort zu reinigen. Es geschieht das in einfacher Weise dadurch, daß man durch die Kerze umgekehrt Kochsalzlösung oder reines Wasser filtriert (Fig. 36). Auf diese Weise ist es möglich, die in die feinen Poren der Filtermasse hineingedrückten Keime zu entfernen.

---

*) Die von anderer Seite vorgeschlagenen Röhrchen mit eingezogenem Halse sind, obwohl sie leichter zugeschmolzen werden können, nicht zu empfehlen, weil sich an der verengten Stelle das Serum beim Abfüllen leicht festsetzt.

Opaleszenz des Antiserums.

Einer der störendsten Fehler, den ein Antiserum haben kann, ist die Opaleszenz. Obwohl eine solche häufig vorkommt, so ist sie doch von vielen Autoren noch nicht gebührend berücksichtigt worden. Die Opaleszenz kann bei ungeübten Untersuchern zu den verhängnisvollsten Irrtümern Veranlassung geben. Es gibt Sera, die gegen

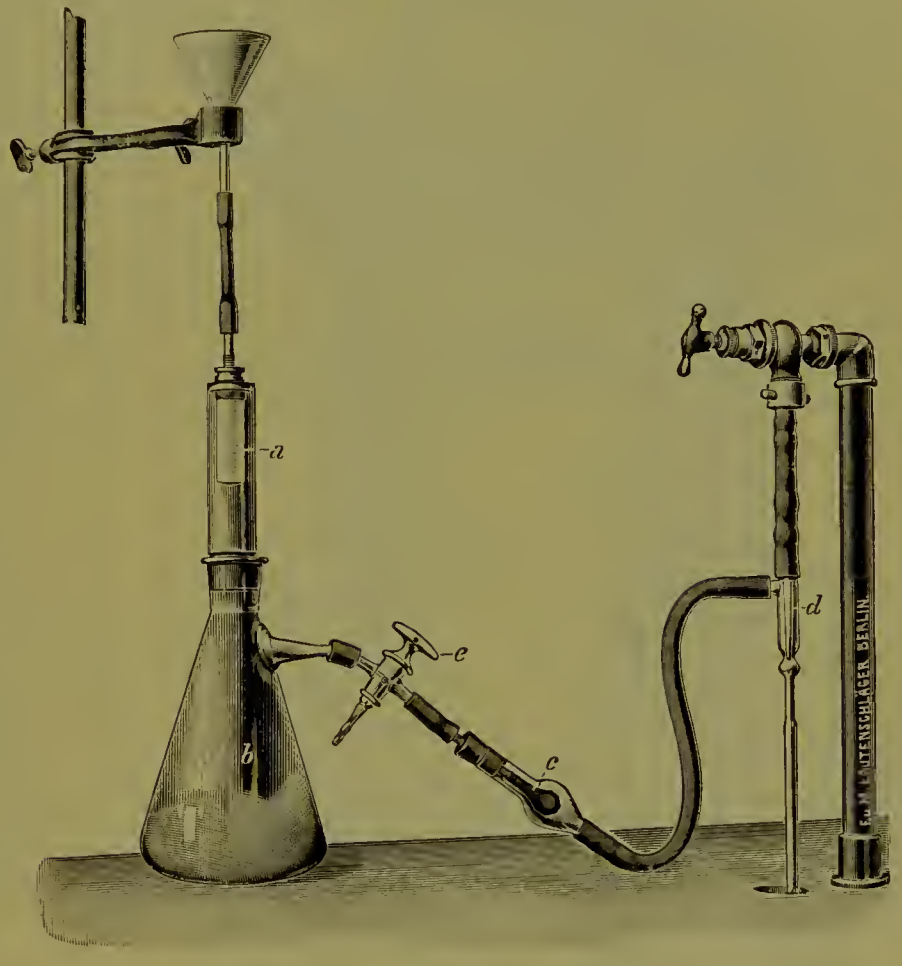


Fig. 36. Reinigung der Kerzen durch umgekehrte Filtration.

das Licht gehalten, stark milchig opaleszieren, trotzdem sie an sich völlig klar sind. Setzt man derartige Sera zu irgend einer Blutlösung, so tritt je nach dem Grade der Opaleszenz eine starke Trübung auf, die einer spezifischen Reaktion täuschend ähnlich sieht. Daß sie aber nur durch das Serum an sich bedingt ist, beweist die Tatsache, daß sie bei Zusatz des Serums zu physiologischer Kochsalzlösung ganz ebenso in Erscheinung tritt. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß diese Trübungen ganz ähnlich wie echte spezifische Trübungen sich nach einer gewissen Zeit am Boden der Reagenzgläschen als leichte Präzipitate absetzen, um dann beim Schütteln des Gläschens sich als leichte wolkenartige Schleier zu erheben. Worauf die Opaleszenz beruht, ist noch nicht recht klar. Höchstwahrscheinlich hängt sie mit dem Verdauungsstadium zusammen, in dem sich die Tiere befinden, wie das auch die Physiologen annehmen. Aus diesem Grunde ist es zweckmäßig, die Tiere vor der Entblutung längere Zeit (24 Stunden) hungern zu lassen. Die Opaleszenz löst sich nicht bei Zusatz von Alkalien (Uhlenhuth).

Da die Opaleszenz ein vorübergehender Zusand ist, so ist es zweckmäßig, die Tiere, die bei der Probeblutentnahme wirksame, aber opaleszierende Sera zeigen, nicht zu töten, sondern zu warten, bis die Opaleszenz verschwunden ist. Außerhalb des Tierkörpers ist es bisher nicht gelungen, die Opaleszenz zu beseitigen. In der Praxis müssen opaleszierende Sera, die besonders den Ungeübten leicht irreführen können, unbedingt verworfen werden.

Weit seltener kommt es vor, daß Sera, infolge ihrer Neigung sofort zu einer Gallerte zu erstarren, für sero-diagnostische Zwecke unbrauchbar sind. Ebenso wie Hauser u. A. beobachteten auch wir, daß das Serum eines an „Lungenseuche“ erkrankten Kaninchens, nachdem es von dem Blutkuchen abpipettiert war, sofort erstarrte. Durch Zentrifugieren der anfangs leicht opaleszierenden, durchsichtigen, nach längerem Stehen fast undurchsichtig gewordenen Masse, gelang es, von dem erstarrten Serum eine klare wasserhelle Flüssigkeit auszupressen. Wurde diese durch vorsichtiges Abpipettieren in ein frisches Röhrchen gebracht, so erstarrte sie wiederum zu einer elastischen Gallerte, aus welcher dann in gleicher Weise wieder ein klares farbloses Serum gewonnen wurde, das ebenfalls bald wieder erstarrte. Es gelang uns in diesem Falle überhaupt nicht, ein flüssigbleibendes Serum zu gewinnen.

b) Titerbestimmung.

Die wichtigste Forderung, die man an ein praktisch zu verwendendes Antiserum stellen muß, ist seine prompte Wirksamkeit. Es ist daher notwendig, daß man die Wertigkeit durch die Titerbestimmung des Serums genau feststellt. Das kann in zweifacher Weise ausgeführt werden. Einmal kann man mittels einer ihrer Konzentration nach genau bekannten Eiweißlösung durch Zusatz eines bestimmten Quantums Antiserum dessen Wertigkeit aus der Menge des aufgetretenen Präzipitats bestimmen oder man stellt sich mehrere immer stärker verdünnte Eiweißlösungen her und beobachtet nach Zusatz von spezifisch wirkendem Serum die auftretenden Trübungen.

Titerbestimmung nach Nuttall.

Der erste Weg, der sich besonders für vergleichende Untersuchungen eignet, ist besonders von Nuttall eingeschlagen. Er führt die Titerbestimmung etwa in folgender Weise aus:

Von einer Serumverdünnung von 1:100 werden 0,5 ccm mit 0,1 ccm Antiserum in ein kleines Reagenzröhrchen gebracht. Die Durchmischung der beiden Flüssigkeiten geschieht durch einfaches Umdrehen des mit dem Finger verschlossenen Röhrchens. Nach 24stündigem Stehen desselben wird von dem zu Boden niedergeschlagenen Präzipitat die darüber befindliche Flüssigkeit vorsichtig abpipettiert und der zurückgebliebene Rest genau gemessen. Hierzu bedient man sich eines Thermometerröhrchens, dessen Lumen so beschaffen ist, daß 0,05 ccm einen 20 mm hohen Raum einnehmen. Um Glasröhrchen von möglichst gleichem Kaliber zu bekommen, steckt man einen zu einer Spitze ausgezogenen Glasstab soweit als möglich in ein derartiges Röhrchen, das obigen Anforderungen entspricht, hinein. Durch Umdrehen des Stabes in demselben bezeichnet man sich nunmehr genau den Berührungsring. Mit einem so markierten

Glasstabe kann man sich dann leicht die passenden Röhrchen aussuchen. Aus diesen Röhrchen werden Pipetten (Fig. 37) hergestellt, deren Spitze (F) 7 cm und deren Hauptstück (D) 11 cm lang ist. Der Inhalt des Röhrchens zwischen A und B beträgt 0,05 ccm.

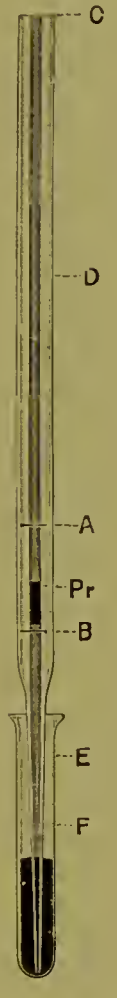


Fig. 37.

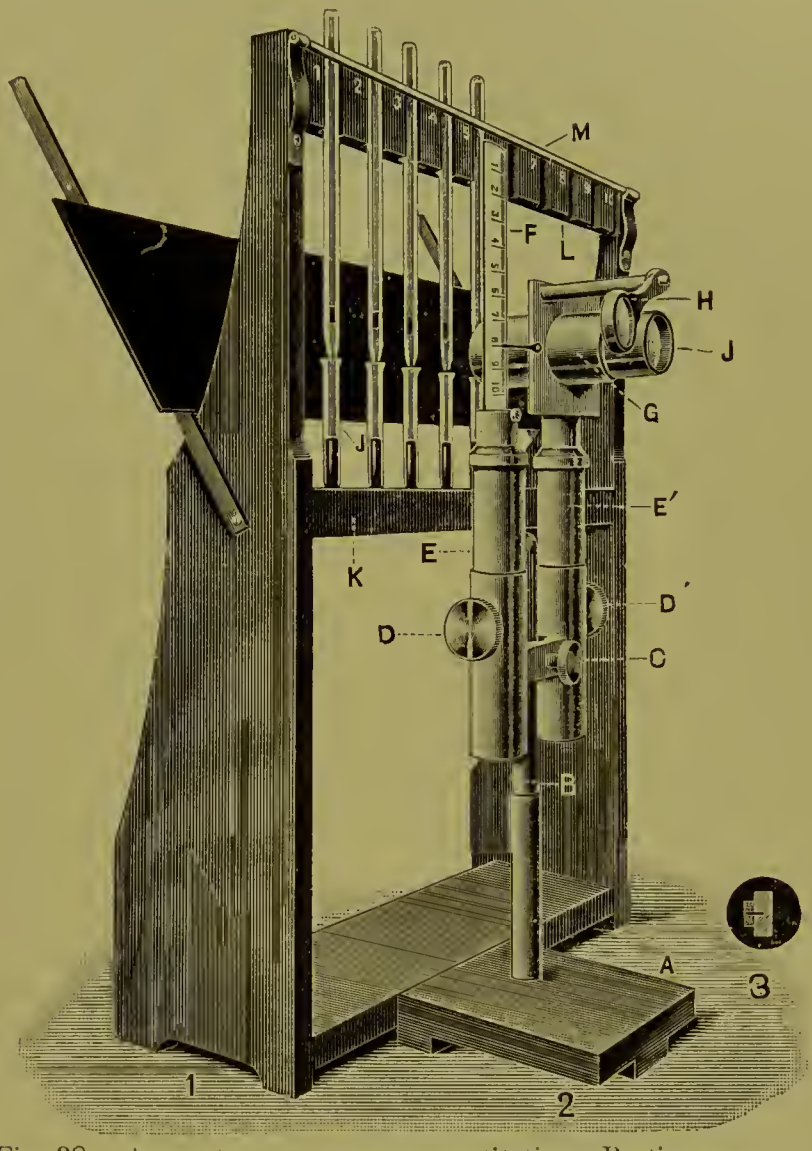


Fig. 38. Apparat zur genauen quantitativen Bestimmung von Präzipitaten nach G. Nuttall und O. Jnchley. (Journ. of hyg. 1904, Vol. IV, Nr. 2.)

Mit einer solchen Pipette wird die in dem kleinen Reagenzgläschen zurückgebliebene, präzipitathaltige Flüssigkeit vollständig aufgesogen, und zwar soweit, bis der untere Meniskus etwas oberhalb von B steht. Um ein Sinken der Flüssigkeit unter B zu verhindern, wird die Spitze des Röhrchens in ein mit Quecksilber gefülltes kleines Reagenzglas (E) gestellt. Nunmehr bleibt das Röhrchen 48 Stunden bei einer Temperatur, die ein Bakterienwachstum verhindert, stehen. Das in dem Thermometerröhrchen nach unten gesunkene Präzipitat wird dann mit folgendem Apparat genau bestimmt.

Der Meßapparat (Fig. 38, 2) besteht aus der eisernen Fußplatte A, auf der der Eisenstab B vertikal befestigt ist; er ist eingekehlt, um dadurch zu verhindern, daß sich der obere Teil des Apparates dreht. Dieser läßt sich an dem Stabe auf- und abschieben und kann durch die Schraube C in jeder gewünschten Höhe festgestellt werden. Das eine

Ende der Schraube ist so abgerundet, daß es genau in die Kehlung des Stabes B hineinpaßt. Der von C durchbohrte horizontale Metallstab trägt zwei senkrechte Röhren mit den Schrauben D und D′, welche die inneren Röhrchen E und E′ unabhängig voneinander mit je 5 cm Spielraum herauf und herunter gleiten lassen können. Röhre E trägt eine senkrecht stehende, stählerne 10 cm-Skala, die in 0,5 mm graduiert ist. Auf E′ ist eine rechtwinklige Platte senkrecht befestigt, durch deren Mitte Röhre G in senkrechter Richtung geht. Außerdem befindet sich an der Platte noch ein Zeiger, der bis vor die Teilstriche der Skala F reicht. In G stecken 2 Röhren, die sich vor- und rückwärts bewegen lassen. Eine davon, nächst dem Reagenzglasständer gelegen, trägt eine Blende (s. Fig. 41, 3) mit rechteckiger Öffnung, deren horizontaler Durchmesser genau dem der Glasröhren, welche den zu messenden Niederschlag (Präzipitat) enthalten, entspricht. Eine feine schwarze Nadel ragt horizontal in das Zentrum dieser Blendenöffnung hinein. Die zweite Röhre J, ist an dem einen Ende offen, an dem anderen mit einer Blende versehen, die einen feinen durch die Mitte gehenden Schlitz zeigt. Die Röhren sind innen geschwärzt.

Der Röhrchenständer soll die das Präzipitat enthaltenen Röhrchen in senkrechter Stellung möglichst nahe der Nadel in der Scheidewand der in G beweglichen Röhre halten. Die kleinen Quecksilber enthaltenden Reagenzgläschen (J) ruhen in konischen Vertiefungen, die den nummerierten Rinnen auf dem Holzbrett K entsprechen. Die Thermometerröhrchen stehen auf dem Boden der Reagenzgläschen auf und halten diese, wenn sie selbst oben eingeklemmt sind, in ihrer Stellung. Die Vertiefungen (L) fixieren die Glasröhrchen, wenn sie mittels des Stabes M in diese Kerbschnitte eingedrückt werden in richtiger Lage. Der Metallstab verläuft parallel mit der oberen Kante von L und wird an jedem Ende durch eine Feder festgehalten. Die Röhrchen müssen immer von unten nach oben eingesetzt werden. Eine schwarze Papptafel liegt auf zwei seitlichen Metallträgern und dient als Hintergrund, um das Ablesen des Präzipitats in den Röhrchen zu erleichtern. Die vordere Fußkante des Röhrengestells dient als Gleitfläche für den Meßapparat.

Die Messung des Präzipitats mit dem beschriebenen Apparat wird folgendermaßen ausgeführt: Man setzt den Fuß des Röhrenständers (1) parallel zu dem Boden A des Apparates. Die Höhe des Apparates wird bestimmt bzw. reguliert durch Lockern von C und Höher- oder Niederschieben des oberen Teiles an dem Stabe B; hat man auf diese Weise die gewünschte Höhe erreicht, so muß die Schraube fest angezogen werden. Darauf wird die Röhre, welche die nadeltragende Blende hat, möglichst nahe an das das Präzipitat enthaltende Thermometerröhrchen von bekanntem Inhalt gebracht, ohne dieses jedoch zu berühren. Durch Regulierung und Durchschauen durch Röhre J muß die Nadelspitze in gleiche Lage mit dem unteren konvexen Spiegel der Flüssigkeit (Präzipitats) gebracht werden. Durch Drehen an D wird die Skala F so eingestellt, daß der Zeiger über der Zentimetergraduierung steht. Nunmehr wird durch Drehen an D′ in ähnlicher Weise der obere Rand des Präzipitats festgelegt. Der Zeiger gibt die auf F zurückgelegte Distanz an, zur Erleichterung des Ablesens dient die kleine Lupe H. Aus der so gefundenen Höhe des Präzipitats und dem Lumen des Röhrchens wird dann die Menge desselben berechnet.

Viel schneller und einfacher kommt man aber auf dem zweiten Wege der Titerbestimmung zum Ziel. Die hierfür angegebenen Methoden unterscheiden sich im Grunde genommen nur dadurch, daß die einen

Autoren schwachwirksame Antisera bei konzentrierteren Eiweißlösungen anwenden, während die anderen hochwirksamen Seris bei starken Verdünnungen der Eiweißlösungen den Vorzug geben.

Titerbestimmung nach Wassermann und Schütze.

Wassermann und Schütze, die schwach wirkende Antisera benutzen, gehen, analog wie bei der Prüfung der Heilsera, von einem Normalserum aus, welches sie als „Normalpräzipitierungsserum" bezeichnen. Es ist dies ein Serum, welches in der Menge von 1 ccm mit 5 ccm einer Blutlösung bestehend aus 0,1 ccm defibrinierten Blutes und 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung nach einer Stunde bei 37 ° C einen flockigen Niederschlag gibt. Die in 1 ccm des Normalserums enthaltene Menge der präzipitierenden Substanz wird als „Präzipitierungseinheit" bezeichnet. Ruft bereits 0,1 ccm des Antiserums bei 5 ccm der Blutlösung einen flockigen Niederschlag hervor, so nennt man es „10faches Normalpräzipitierungsserum".

Wassermann und Schütze warnen vor einer Verwendung von Antiserum, welches mehr als 2 Präzipitierungseinheiten hat. Die Titration, durch die die Zahl der Einheiten in 1 ccm bestimmt wird, geschieht in folgender Weise: Man stellt sich Blutflecken auf Leinwandstückchen mit je 0,1 ccm Blut her und trocknet dieselben. Nach etwa 2 Tagen löst man mehrere solche Blutflecke mit je 5 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung auf, filtriert dann die Lösungen bis sie vollkommen klar geworden sind und schüttet die klaren Filtrate in je ein Reagenzglas. Zu diesen Röhrchen wird nun das zu prüfende Antiserum in absteigendem Quantum, also beispielsweise 1 ccm, 0,75 ccm, 0,5 ccm, 0,25 ccm und 0,1 ccm zugesetzt; dann werden die Röhrchen in einen bei 37 ° C gehaltenen Brutschrank auf eine Stunde gestellt. Dasjenige Röhrchen, welches bei dem geringsten Zusatz von Serum flockigen Niederschlag zeigt, gibt die Präzipitierungseinheit an. Wenn z. B. diese Erscheinung in den Röhrchen mit 1,0, 0,75 und 0,5 ccm Antiserumzusatz in unzweifelhafter Weise auftritt, in dem Röhrchen mit 0,25 ccm Antiserumzusatz aber nur eine schwache Trübung sichtbar ist, dann ist die Präzipitierungseinheit in 0,5 ccm enthalten. Das Antiserum ist dann als ein zweifaches Normalpräzipitinserum anzusehen.

Titerbestimmung nach Uhlenhuth und Beumer.

Uhlenhuth, der für die Praxis ein sehr hochwertiges Antiserum aus den bereits oben erörterten Gründen verlangt, geht bei der Titerbestimmung in folgender Weise vor: Man stellt sich zuerst Verdünnungen mit 0,85 %iger Kochsalzlösung von den betreffenden Serumsorten her, zu deren Nachweis das Antiserum dienen soll und zwar 1 : 1000, 1 : 10000 und 1 : 20000. Man bedient sich zur Titerbestimmung ebenfalls zweckmäßig des von Uhlenhuth und Beumer angegebenen Reagenzglasgestelles (s. oben). Für die Titerbestimmung werden nunmehr 4 gleichmäßig dicke und absolut saubere Reagenzröhrchen ausgesucht und in das Gestell hineingehängt. Mit einer sterilen Pipette werden in Röhrchen I, II und III je ein Kubikzentimeter der klaren Verdünnungen 1 : 1000, 1 : 10000 und 1 : 20000 gebracht. Röhrchen IV wird mit 1 ccm steriler 0,85 %iger Kochsalzlösung beschickt. Zum Einfüllen dieser verschiedenen Lösungen genügt eine einzige, sterile, einen Kubikzentimeter fassende Pipette, wenn

man in der Weise vorgeht, daß man zuerst Röhrchen IV, dann III, II und zuletzt I mit den erwähnten Flüssigkeiten versieht.

Zu den einzelnen Röhrchen wird je 0,1 ccm des zu prüfenden klaren Antiserum mit einer sterilen, graduierten Pipette (1 ccm mit 100 Teilstrichen) zugesetzt. Ohne zu schütteln werden nunmehr die Röhrchen zweckmäßig bei durchfallendem Tageslicht betrachtet, indem zwischen Lichtquelle und Reagenzröhrchen ein schwarzes, schräg nach oben geneigtes Brettchen gehalten wird.

Bei einem den Uhlenhuthschen Anforderungen entsprechendem Antiserum muß in Röhrchen I fast momentan, spätestens nach 1 bis 2 Minuten eine deutliche Trübung auftreten, nach 3 resp. 5 Minuten muß auch in Röhrchen II bzw. III die beginnende Trübung deutlich erkennbar sein. Die Reaktion ist zuerst als hauchartige Trübung an dem Boden des Röhrchens sichtbar, sie verwandelt sich aber nach etwa 5 Minuten in eine dicke, wolkige, die sich weiterhin als Bodensatz absetzt. Entsprechend den einzelnen Verdünnungen verläuft die Reaktion mehr oder weniger schnell. Röhrchen IV muß dagegen absolut klar bleiben.

Um die Frage zu beantworten, an welchem Material (ob an Blut- oder Serumverdünnungen) die Titerbestimmung der Antisera am besten vorgenommen werden soll, haben Uhlenhuth, Beumer, Hauser, Kister und Wolff sowie Schulz zahlreiche Versuche angestellt und sind dabei zu den übereinstimmenden Resultaten gekommen, daß eine genaue Wertbestimmung nur an Serumverdünnungen möglich sei, da die Anwesenheit von Blutfarbstoff die Erkennung zarter Trübungen erschwere und außerdem einen gewissen hemmenden Einfluß auf die Reaktion ausübe. Schulz stellte ferner fest, daß die Wertigkeit eines Antiserums, an einer Serumverdünnung geprüft, höher ist als bei der entsprechenden Blutlösung. Es ist das ohne weiteres klar, denn in den Blutverdünnungen ist weniger ausfällbare Substanz vorhanden als in den Serumverdünnungen, da die Blutkörperchen etwa ein Drittel des Blutvolumens ausmachen. Eine Blutlösung von 1:1000 wird daher bei Zusatz der gleichen Mengen präzipitierenden Serums keine so eklatante Reaktion geben wie eine Serumverdünnung von 1:1000.

c) Spezifitätsbestimmung.

Hat man den Titer eines Antiserums ermittelt, so muß dasselbe auf seine Spezifität geprüft werden. Es ist das deshalb notwendig, weil homologe Antisera von gleich hoher Wertigkeit keineswegs auch gleich spezifisch zu sein brauchen. So kann es z. B. vorkommen, daß bei dem einen Antiserum die Grenze der heterologen Trübungen bis 1:50, bei dem anderen derselben Art dagegen bis 1:200 reicht. Die Spezifitätsprüfung wird in der Weise ausgeführt, daß man sich eine Reihe heterologer Eiweißlösungen von je 1:200 und 1:1000 herstellt. Das homologe Serum wird dagegen nur 1:1000 verdünnt. Ähnlich wie bei der Titerbestimmung werden die einzelnen Lösungen zu je 1 ccm in Uhlenhuthsche Röhrchen gebracht und mit je 0,1 ccm Antiserum versetzt. Während in dem mit homologer Eiweißlösung beschickten Röhrchen sofort nach dem Antiserumzusatz eine deutliche spezifische Trübung einzutreten hat, müssen die übrigen Röhrchen, selbst noch nach 20 Min. absolut klar bleiben. Sera, die starke heterologe Trübungen geben, sind

für die Praxis unbrauchbar. Bei der Titerbestimmung von Pferde-Antiserum muß in jedem Falle genau die Spezifität des Serums gegen Schweine- und Rinderserum (bzw. Schweine- und Rindfleischlösungen) bestimmt werden.

9. Konservierung präzipitierender Sera.

Das in der angegebenen Weise steril gewonnene Serum wird am besten im Eisschrank aufbewahrt und hält sich hier, ohne eine nennenswerte Abschwächung zu erfahren, oft jahrelang brauchbar. Zusätze zum Serum wie Chloroform, Karbolsäure (Uhlenhuth), Trikresol (Nuttall), Xylol, Benzol, Toluol, Lysoform, Chinosol, Sublimat, Silbernitrit, Diaphtherin (Schüller) usw. haben sich nicht bewährt, Formalinzusatz schädigt die Präzipitation in erheblicher Weise. Nach Marx soll bereits ein mit Formalin getränkter, zum Verschluß der Aufbewahrungsgläser benutzter Wattebausch die Brauchbarkeit des Normal- wie die Wertigkeit des Antiserums beeinträchtigen. Viel weniger schädlich waren die anfänglich von Uhlenhuth empfohlenen Zusätze von 0,5 %iger Karbolsäure und Chloroform. Die mit Chloroform versetzten Sera lassen sich nach den Angaben von Biondi monatelang aufbewahren, ohne daß sich ihre Aktivität im geringsten verminderte. Auch Uhlenhuth konnte bei drei- bis viermonatlicher Beobachtung derartig konservierter Sera eine wesentliche Abschwächung ihrer Wirksamkeit nicht beobachten. Dagegen zeigten dieselben Sera — die Sera stammten aus den Jahren 1902, 1903 und 1904 — bei der Anfang 1908 im Kaiserlichen Gesundheitsamte vorgenommenen Titerbestimmung, daß ihre präzipitierende Wirkung vollständig geschwunden war. Es muß hierbei allerdings berücksichtigt werden, daß die Sera wiederholt monatelang bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden und oft stundenlang dem schädlichen Einfluß des Lichtes ausgesetzt gewesen waren. Ein Zusatz von konservierenden Mitteln zu präzipitierenden Seris wird sich schon deshalb nicht empfehlen, weil hierdurch die Klarheit der Sera, die für die biologische Reaktion eine unbedingte Voraussetzung ist, oft wesentlich beeinträchtigt wird. So wurde bereits von Uhlenhuth darauf aufmerksam gemacht, daß sich beim Zusatz von Chloroform in vielen Seris Trübungen bildeten, die sich allerdings meistens nach einiger Zeit unter völliger Klärung des Serums zu Boden setzten. Wenn man die Sera mit soviel Glyzerin und Kochsalz versetzt, daß sie 20% Glyzerin und 0,9% NaCl enthalten, dann bleiben sie klar, aber das Auftreten der Präzipitinreaktion wird verlangsamt. Ebensowenig haben sich Zusätze von Allylalkohol und von arseniger Säure bewährt (Löffler). Nach den Untersuchungen von Graham-Smith gibt es bis jetzt kein Antiseptikum, das die Wirksamkeit der präzipitierenden Sera nicht ungünstig beeinflußt. Neuerdings berichtet Schüller über günstige Erfahrungen bei Verwendung von 1% Karbolkochsalzlösung (1 : 0,8 : 99) zu gleichen Teilen oder 0,05—0,1 % Diaphtherin in 1%iger Lösung.

G. Hauser tötet im Gegensatz zu Uhlenhuth die Tiere, die ein hochwertiges Antiserum liefern, nicht, sondern entnimmt dem Kaninchen jedesmal die für die Untersuchung notwendige Menge Serum. Da nun aber die Präzipitationsfähigkeit im Tierkörper, trotz der Weiterbehandlung der Tiere, oft abnimmt, und da außerdem das Antiserum, welches bei der ersten Abnahme klar war, bei weiteren Abnahmen opaleszieren kann, so

ist von einer „Aufbewahrung der Sera im Tierkörper" abzuraten. Ehrlich und Sachs empfehlen die Aufbewahrung präzipitierender Sera in gefrorenem Zustande und wollen mit dieser Methode die besten Erfolge erzielt haben.

Ferner hat man versucht, die Antisera im Vakuum zu trocknen. Das so erhaltene Pulver „trockenes Serum" (Corin, Stockis) hat aber den erheblichen Nachteil, daß es sich besonders nach längerem Aufbewahren schlecht oder nicht vollkommen klar löst (Uhlenhuth). Schüller gelang es unter 12 Fällen nur zweimal ein klar lösliches Serum zu erhalten. Ottolenghi empfiehlt mit Jacobsthal, v. Eisler und Berestneff die Konservierung präzipitierender Sera auf Fließpapier. Diese Autoren fanden, daß solche auf Papier getrocknete Sera, wenn sie vor Licht und Feuchtigkeit geschützt aufbewahrt wurden, unverändert ihre Wirksamkeit beibehielten, und daß sie sich gegen hohe Temperaturen relativ unempfindlich erwiesen; konnten sie doch ein dreiviertelstündiges Erhitzen auf 100° C ohne Abschwächung aushalten. Dagegen verlor das in derselben Weise behandelte Serum, dem Einfluß von Licht, Luft und Feuchtigkeit ausgesetzt, schon innerhalb 14 Tagen bedeutend von seiner Wirksamkeit. v. Eisler, der über die Konservierung präzipitierender Sera auf Papier eingehende Untersuchungen angestellt hat, verwendete im Gegensatz zu Berestneff, der Filtrierpapier von Schleicher und Schüll Nr. 571 zur Serumtrocknung benutzte, schwarzes Papier, das sich als dunkler Hintergrund für die Sichtbarmachung der auftretenden Trübung als zweckmäßig erwies, während weißes Papier die Wahrnehmung einer beginnenden Trübung erschwerte. Nach seinen Untersuchungen eignet sich am besten das sog. Naturpapier, da das Serum in verhältnismäßig kurzer Zeit darauf eintrocknet und sich später leicht wieder löst. Auf etwa 1 qcm große Stückchen dieses Papieres wurde das Serum in der zur Ausführung der Reaktion nötigen Menge von 0,1 ccm gebracht und nunmehr 2—3 Stunden im Brutschrank bei 36° gehalten. Derartig konserviertes Serum soll, vor Luft und Feuchtigkeit geschützt, während der Zeit von drei Monaten nichts von seiner Wirksamkeit verloren haben. Die mit angetrocknetem Serum versehenen Papierstückchen werden zweckmäßig in gelben Fläschchen, deren Stöpsel mit Paraffin abgedichtet sind oder noch besser im Exsikkator aufbewahrt.

Die Ausführung der Reaktion gestaltet sich bei der Verwendung des mit Präzipitin präparierten „Reagenzpapieres" in folgender Weise: Ein mit 0,1 ccm Immunserum beschicktes Papierchen wird in die zu untersuchende 1:1000 verdünnte Blutlösung resp. Serumverdünnung (2 ccm) gebracht; das eingetrocknete Serum löst sich innerhalb 1—2 Minuten. Durch Umschütteln kann die Lösung befördert werden.

Derartig eingetrocknetes Serum hat nach v. Eisler und R. Kraus vor dem flüssigen Serum den Vorzug, daß es viel bequemer zu verschicken ist und eine große Ersparnis von Material gewährleistet; denn das auf dem Papierstückchen eingetrocknete Serum ermöglicht es, gerade nur die zur Ausführung einer Untersuchung nötige Menge von Serum zu verwenden, während bei Anwendung von flüssigem Serum, selbst wenn es in kleineren Mengen in Röhrchen aufbewahrt wird, nach Eröffnung des Röhrchens die ganze darin enthaltene Serummenge schnell aufgebraucht werden muß. Die günstigen Resultate, die v. Eisler mit dieser Methode erzielte, haben ihn veranlaßt, das Verfahren für die forensische Praxis zu empfehlen.

Nach den Untersuchungen von Ziemke und anderen Autoren sollen sich aber auch die in völlig getrocknetem Zustande aufbewahrten Antisera allmählich abschwächen. — Außerdem wird man aber auch bei diesen Seris zu berücksichtigen haben, daß auch bei ihnen, ähnlich wie bei den agglutinierenden Seris, nach längerer Zeit (nach etwa 10 Monaten) ihre Löslichkeit abnimmt.

Keine der Konservierungsmethoden ist nach unseren Erfahrungen der einfachen sterilen Aufbewahrung des flüssigen Serums in kleinen braunen Röhrchen vorzuziehen.

Solche Sera haben, wie aus folgenden von uns im Kaiserl. Gesundheitsamte ausgeführten Untersuchungen hervorgeht, eine fast unbegrenzte Haltbarkeit. Es wurden im ganzen 35 längere Zeit aufbewahrte, präzipitierende Sera auf ihre Wirksamkeit geprüft, darunter waren 20 Menschen-, 9 Pferde- und 6 Rinderantisera. Die ältesten Sera stammten, wie das aus der folgenden Tabelle ersichtlich, bereits aus dem Jahre 1903, die jüngsten waren auch bereits fast 1 Jahr alt.

Am Tage der Gewinnung entsprach die Wirksamkeit der Sera den von Uhlenhuth vorgeschriebenen Anforderungen, d. h. die Sera zeigten in den homologen, 1 : 1000 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Eiweißlösungen, momentan oder spätestens nach 2 Minuten eine deutliche Trübung; nach 3 resp. 5 Minuten wurde auch in den stärkeren Verdünnungen (1 : 10 000 und 1 : 20 000) eine beginnende Reaktion deutlich wahrgenommen.

(Siehe Tabelle pag. 224.)

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die ohne konservierende Zusätze jahrelang steril aufbewahrten präzipitierenden Sera eine nennenswerte Abschwächung ihrer Wirksamkeit nicht erfahren haben. Der Rückgang des Titers bei einigen Seris von 1 : 20 000 auf 1 : 10 000 ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß, wie bereits erwähnt, die Sera nicht dauernd im Eisschrank und vor Licht geschützt aufbewahrt wurden. Sie haben wiederholt monatelang auch während des Sommers im Laboratorium gestanden und sind öfters stundenlang dem schädlichen Einfluß des Sonnenlichtes ausgesetzt gewesen.

Ebenso wie Biondi konnten auch wir feststellen, daß Sera, die durch Schimmelpilze verunreinigt waren, eine Verminderung ihrer spezifischen Reaktionsfähigkeit nicht aufwiesen; klar filtriert zeigten sie volle Wirksamkeit.

Fast bei allen Seris fand sich ein mehr oder weniger starker gelbgrau bis grauweißer Bodensatz, der insofern allerdings sehr störend ist, als er bei unvorsichtiger Entnahme des Serums aufgerührt wird und dadurch letzteres trübt. Durch längeres Stehenlassen oder Zentrifugieren des Serums gelingt es jedoch leicht, die für die Reaktion notwendige Klarheit wieder herzustellen.

Wodurch die Niederschläge, die sicher nicht bakterieller Natur sind, in den Seris bedingt werden, läßt sich zurzeit noch nicht mit Sicherheit sagen. W. A. Schmidt machte ganz zufällig die Beobachtung, als er bei der Titerbestimmung von Menschenantiseris irrtümlich zweimal Antiserum, das von verschiedenen Kaninchen stammte, zusetzte, daß in diesem Röhrchen, im Gegensatz zu den anderen, sofort eine ungewöhnlich starke Reaktion eintrat. Er schloß aus dieser Beobachtung

1. daß ein Antiserum neben dem Präzipitin auch das zur Vorbehandlung der Kaninchen verwandte (also präzipitabele Eiweiß) enthalten

Titerbestimmung von steril gewonnenen, ohne Zusatz längere Zeit aufbewahrten, flüssigen Seris.

Art des Antiserums	Makroskopische Beschaffenheit des Antiserums	Datum d. Gewinnung des Antiserums	Datum der letzten Titerbestimmung des Antiserums	Wirksamkeit des Antiserums bei Verdünnungen von:		
				1:1000	1:10 000	1:20 000
1. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	2. 6. 1904	2. 1. 1908	Nach 2 Minuten Trübung	Nach 5 Min. beginn. hanchart. Trübung	—
2. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, starker Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	29. 12. 1904	2. 1. 1908	Nach 5 Minuten Trübung	Nach 10 Minuten hanchart. Trübung	—
3. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, etwas rot gefärbt, starker Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	28. 3. 1905	2. 1. 1908	Nach 1 Minute Trübung	Nach 5 Minuten Trübung	Nach 10 Minuten Trübung
4. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, geringer fettiger Überzug (Cholestearin)	14. 11. 1906	2. 1. 1908	Nach 5 Minuten Trübung	Nach 10 Minuten Trübung	—
5. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, geringer fettiger Überzug (Cholestearin)	12. 4. 1907	2. 1. 1908	Sofortige Trübung	Sofortige Trübung	Nach 1 Minute Trübung
6. Rinder-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Spur von Bodensatz, leichter fettiger Überzug (Cholestearin)	23. 4. 1907	2. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 1 Minute Trübung	Nach 5 Minuten Trübung
1. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	25. 5. 1904	3. 1. 1908	Nach 1 Minute Trübung	Nach 5 Minuten Trübung	Nach 10 Minuten Trübung
2. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Weißer, die Kuppe des Röhrchens bedeckender Niederschlag	10. 1. 1905	3. 1. 1908	Nach 5 Minuten Trübung	Nach 10 Minuten Trübung	—

3. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist z. T. klar, geringer Bodensatz, schleierartige Trübung über demselben (Schimmel)	13. 2. 1905	3. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 10 Min. schwache Trübung	Nach 30 Min. Trübung
4. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, kein Bodensatz	3. 1. 1906	3. 1. 1908	Nach 5 Min. Trübung	Nach 10 Min. Trübung	—
5. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	2. 11. 1906	3. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach $^1/_2$ Min. Trübung	Nach 2 Min. Trübung
6. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	13. 12. 1906	3. 1. 1908	Nach $^1/_2$ Min. beginnende Trübung	Nach 5 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. beginnende Trübung
7. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	19. 1. 1907	3. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 1 Min. Trübung	Nach 2 Min. beginnende Trübung
8. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	12. 2. 1907	3. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach $^1/_2$ Min. Trübung	Nach 5 Min. beginnende Trübung
9. Pferde-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist trotz dreimaliger Filtration nicht klar geworden (Schimmelpilze), ger. Bodensatz	28. 10. 1907	3. 1. 1908	Sofortige Trübung (Ringbildung)	Sofortige Trübung	Nach 2 Min. beginnende Trübung
1. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	30. 12. 1903	4. 1. 1908	Nach 5 Min. ringförmige Trübung	Nach 10 Min. Trübung	Nach 20 Min. Trübung
2. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Bodensatz, fettiger Überzug (Cholestearin)	15. 12. 1903	4. 1. 1908	Nach 3 Min. Trübung	Nach 5 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. hauchartige Trübung
3. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, aber opalesziert etwas, Bodensatz, geringer fettiger Überzug (Cholestearin)	7. 1. 1904	4. 1. 1908	Nach 5 Min. ringförmige Trübung	Nach 10 Min. beginnende hauchartige Trübung	Nach 30 Min. hauchartige Trübung
4. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Spur von Bodensatz	15. 6. 1904	4. 1. 1908	Nach $^1/_2$ Min. Trübung	Nach 15 Min. Trübung	—

Titerbestimmung von steril gewonnenen, ohne Zusatz längere Zeit aufbewahrten, flüssigen Seris.

Art des Antiserums	Makroskopische Beschaffenheit des Antiserums	Datum d. Gewinnung des Antiserums	Datum der letzten Titerbestimmung des Antiserms	Wirksamkeit des Antiserums bei Verdünnungen von:		
				1:1000	1:10 000	1:20 000
5. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	26. 6. 1904	4. 1. 1908	Nach 5 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. hauchartige Trübung	Nach 20 Min. hauchartige Trübung
6. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist vollkommen klar, geringer Bodensatz	15. 8. 1904	4. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 2 Min. Trübung	Nach 10 Min. Trübung
7. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum opalesziert, ger. Bodensatz	27. 8. 1904	4. 1. 1908	Nach $^1/_2$ Min. ringförmige Trübung	Wegen Opaleszenz ist eine Reaktion nicht wahrnehmbar	Wegen Opaleszenz ist eine Reaktion nicht wahrnehmbar
8. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, Cholestearinüberzug	24. 1. 1905	4. 1. 1908	Nach 5 Min. Trübung	Nach 10 Min. beginnende Trübung	—
9. Menschen-Antiserum von wilden Kaninchen gewonnen (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Spur von Niederschlag, Cholestearinüberzug	16. 3. 1906	4. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 20 Min. Trübung	—
10. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	24. 6. 1906	4. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 5 Min. Trübung	Nach 20 Minuten Trübung
11. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	29. 9. 1906	4. 1. 1908	Nach 5 Min. Trübung	Nach 15 Min. Trübung	Nach 30 Min. beginnende Trübung
12. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, auf der Oberfläche starke Cholestearinbildung, geringer Bodensatz	9. 10. 1906	4. 1. 1908	Nach $2^1/_2$ Min. Trübung	Nach 10 Min. beginnende Trübung	Nach 30 Min. hauchartige Trübung
13. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	2. 1. 1907	4. 1. 1908	Nach 2 Min. ringförmige Trübung	Nach 5 Min. Trübung	Nach 20 Min. beginnende hauchartige Trübung

14. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz	23. 11. 1905	4. 1. 1908	Nach 2 Min. Trübung	Nach 15 Min. Trübung	—
15. Menschen-Antiserum II (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, geringer Bodensatz, Cholestearinbildung	11. 2. 1907	4. 1. 1908	Nach 5 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. hauchartige Trübung	Nach 15 Min. hauchartige Trübung
16. Menschen-Antiserum III (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Bodensatz, Cholestearinbildung	11. 2. 1907	4. 1. 1908	Sofortige Trübung	Nach 5 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. hauchartige Trübung
17. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist klar, Bodensatz	20. 6. 1907	4. 1. 1908	Nach 1 Min. beginnende Trübung	Nach 10 Min. hauchartige Trübung	—
18. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum leicht getrübt, Bodensatz, Oberfläche mit Schimmel bedeckt	27. 6. 1907	4. 1. 1908	Sofortige Trübung	Trübung nach 2 Min.	Hauchartige Trübung nach 5 Min.
19. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Flockige Trübung des Serums, Schimmelbildung, Bodensatz	12. 8. 1907	4. 1. 1908	Sofortige ringförmige Trübung	Nach 2 Min. beginnende Trübung	Nach 6 Min. hauchartige Trübung
20. Menschen-Antiserum (ohne Zusatz konserviert)	Serum ist absolut klar, kein Bodensatz und keine Cholestearinbildung	9. 7. 1907	4. 1. 1908	Sofortige ringförmige Trübung	Mehr diffuse Trübung nach 2 Min.	Nach 5 Min. beginnende Trübung

kann, ohne daß im Antiserum selbst eine Wechselwirkung zwischen beiden eintritt und

2. daß dies präzipitabele Eiweiß, welches sich im „latenten" Zustande im Antiserum befindet, durch das Präzipitin eines anderen, mit gleicher Blutart vorbehandelten Kaninchens ausgefällt werden kann.

Diese paradoxe Eigenschaft der Antisera ist praktisch insofern von Bedeutung, als sie davor warnt, bei einer Untersuchung Sera zu benutzen, die von verschiedenen Kaninchen stammen. Im § 16 Abs. 3 der Anlage a zu den am 1. April 1908 in Kraft getretenen Ausführungsbestimmungen D zum Fleischbeschaugesetz, durch den die biologische Untersuchung beim Vorliegen des Verdachtes verbotswidriger Einfuhr von zubereiteten Einhuferfleisch gesetzlich vorgeschrieben ist, hat man auf diese Eigenschaft der präzipitierenden Sera bereits Rücksicht genommen, denn in der Anweisung heißt es: „Zur Untersuchung soll stets nur der Inhalt eines Röhrchens, nicht dagegen eine Mischung mehrerer Röhrchen verwendet werden." Dasselbe gilt natürlich auch für Abgabe anderer Antisera zum Nachweis von Fleisch, Blut usw.

Die Tatsache, daß in einem Antiserum die präzipitierende Substanz und das zur Vorbehandlung der Kaninchen verwandte Eiweiß unabhängig voneinander vorkommen können, legte den Gedanken nahe, daß die bei längerer Aufbewahrung spontan in den präzipitierenden Seris auftretenden Ausfällungen durch sog. „Autopräzipitation" bedingt seien. Für diese Annahme sprach ferner noch die Tatsache, die auch von Merkel festgestellt wurde, daß nachträgliche Trübungen und Ausflockungen steril gewonnener Sera besonders dann aufzutreten pflegten, wenn die Sera zu früh nach der letzten Injektion dem Kaninchen abgenommen wurden, d. h. zu einer Zeit, in der neben den bereits gebildeten Antikörpern noch freies Antigen vorhanden war.

Um diese Frage näher zu studieren, wurden von uns 10 mit Pferdeeiweiß vorbehandelte Kaninchen täglich auf Antigen und Antikörper untersucht. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß den einzelnen Tieren jedesmal etwa 1 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen wurde. Das hieraus gewonnene, klar filtrierte Serum wurde zum Antigennachweis mit der 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und dann mit hochwertigem Pferde-Antiserum überschichtet (Kapillarmethode). Bei Kaninchen, die mit 5 ccm Pferdeserum intravenös einmal gespritzt waren, konnten wir noch am 15. Tage nach der Injektion den Nachweis von Pferdeeiweiß im Blut erbringen. Um den Nachweis von Antikörpern in den mit Pferdeeiweiß vorbehandelten Tieren zu führen, überschichteten wir das klar filtrierte Kaninchenantiserum mit 1 : 10 verdünntem Pferdeserum. Als Kontrolle diente normales Kaninchenserum. Wir konnten bereits etwa acht Tage nach der ersten intravenösen Injektion geringe Antikörperbildung nachweisen. Mit dem täglich beobachteten Wachsen der präzipitierenden Substanz ging die Abnahme der Antigenmenge Hand in Hand. Bei Antiseris, die bereits ziemlich hochwertig waren, ließ sich noch längere Zeit nach der letzten Injektion freies Antigen nachweisen. Weiter zeigte es sich, daß ein von demselben Kaninchen stammendes Antiserum, am zweiten Tage nach der letzten Injektion abgenommen und steril in einzelnen Röhrchen aufbewahrt, nach einiger Zeit spontan einen etwas größeren Niederschlag gab, als das vier Tage später abgenommene Serum. Die vor und nach dem Auftreten des Niederschlages ausgeführte Titerbestim-

mung ergab außerdem, daß eine ganz minimale Abnahme der Wirksamkeit des Serums stattgehabt hatte.

Diese Untersuchungen scheinen dafür zu sprechen, daß die in den einzelnen Serumröhrchen gefundenen Niederschläge vielleicht auf Autopräzipitation zurückzuführen sind.

Gegen diese Annahme spricht allerdings die Beobachtung, daß auch normales Kaninchenserum bei längerer Aufbewahrung ähnliche Ausfällungen zeigen kann. Nach Uhlenhuth ist es nicht ausgeschlossen, daß die Niederschläge auch durch bestimmte Glassorten, in denen die Sera aufbewahrt sind, bedingt werden.

Die eben erwähnten Ausflockungen sind nicht zu verwechseln mit den Trübungen, die auftreten, wenn das Antiserum in zu kühlen Räumen aufbewahrt wird (Uhlenhuth); im Gegensatz zu jenen lösen sich diese Niederschläge, die auf Salzausfällungen zu beruhen scheinen, bei gelindem Erwärmen auf und setzen die Wirksamkeit des Antiserums nicht herab.

Der bei vielen Seris beobachtete „fettige" Überzug, der höchstwahrscheinlich aus Cholestearin besteht, scheint die Wirksamkeit der präzipitierenden Sera nicht zu beeinträchtigen.

Hemmungserscheinungen haben wir bei den untersuchten Seris, wenigstens bei den in der Praxis vorkommenden Verdünnungen, nicht beobachten können.

Aus unseren Untersuchungen ergibt sich:

1. Die im flüssigen Zustande ohne konservierende Zusätze steril aufbewahrten präzipitierenden Sera sind jahrelang haltbar.

2. Die Tötung der Kaninchen, die ein hochwertiges Antiserum liefern, ist zweckmäßig erst dann vorzunehmen, wenn kein freies Antigen mehr nachweisbar ist.

3. Nach dem Auftreten von Eiweißausfällungen, die vielleicht auf „Autopräzipitation" zurückgeführt werden können, ist eine abermalige Titerbestimmung vorzunehmen.

Da die Gewinnung hochwertiger Sera, wie wir gesehen haben, mit gewissen Schwierigkeiten verbunden ist und solche Sera nicht überall erhältlich sind, so werden bis auf weiteres Menschen- und Pferdeeiweiß präzipitierende Sera vom Kaiserlichen Gesundheitsamt an amtliche Untersuchungsstellen abgegeben. Das steril filtrierte Antiserum, das mit Datum und Angabe des Titers versehen ist, wird in flüssiger Form ohne jeden Zusatz verschickt. Es empfiehlt sich, die für die Herstellung der Kontrolllösungen notwendigen Reagentien (normales Kaninchenserum in flüssiger Form sowie angetrocknetes Menschen-, Pferde- und Rinderblut) beizufügen.

Die für den Transport bestimmten Antisera, sowie die zur Herstellung der Kontrollösungen nötigen Röhrchen (4) werden zweckmäßig in einen mit 6 Bohrungen versehenen Holzklotz geschoben. Die einzelnen Bohrlöcher sind numeriert (1—6) zur Aufnahme der entsprechend bezeichneten Röhrchen. Der Verpackung ist zweckmäßig folgende Anweisung beizugeben:

„Das präzipitierend wirkende Antiserum (vom Kaninchen) in Röhrchen 1 und 2 und das normale Kaninchenserum in Röhrchen 3 sind ohne jeden Zusatz steril aufbewahrt. Etwaige Trübungen sind nicht bakterieller

Natur, sondern Ausfällungen von Eiweißsubstanzen, die durch den Transport aufgeschüttelt sind. Durch längeres Stehen oder Zentrifugieren wird das Serum wieder klar und somit gebrauchsfähig. Das Serum ist vor Licht geschützt kühl aufzubewahren.

In Röhrchen 4, 5 und 6 befindet sich auf Gaze angetrocknetes Menschen-, Pferde- und Rinderblut. Die Blutlösungen werden durch Auslaugung mittels physiologischer Kochsalzlösung ebenso wie die Lösungen aus den Testobjekten hergestellt."

Literatur.

Die mit einem Stern versehenen Literaturangaben beziehen sich auf den biologischen Nachweis von Pferdefleisch und anderer Fleischsorten.

Adler, O. u. R., Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. Zeitschr. für physiol. Chemie 1904, Bd. XLI.

Alkan, R., Über den Einfluß der Salzkonzentration auf die Präzipitinreaktion. Diss. Würzburg. 1903.

Arthus und Vansteenberghe, Compt. rend. de soc. de biol. 1902, Nr. 8. Referat Zeitschr. f. Medizinalbeamte 1902, Nr. 13.

Ascarelli, Der Nachweis von Blutspuren mittels der Benzidinprobe in forensischer Beziehung. Deutsche mediz. Wochenschrift 1908, Nr. 53 (31. Dezember).

Aschoff, Ehrlichs Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse. Zeitschr. für allg. Physiol. Bd. I.

Ders., Note on the origin of urine albumin. Lancet 1902, 6. Sept.

Ascoli, M., Über den Mechanismus der Albuminurie durch Eiereiweiß. Münch. med. Woch. 1902, Nr. 10.

Ders., Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung und der Eiweißkörper des Blutserum. Ebd. 1902, Nr. 34.

Ders., Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. Ebd. 1903, Nr. 5.

Ders., Passiert Eiweiß die plazentare Scheidewand? Zeitschr. für physiol. Chemie, Nr. 36, pag. 498.

Ascoli, A., Sul' passagio delle precipitine da madre al feto Atti del congr. internaz. di ost e gin. Roma 1903.

Ascoli, M. u. Bonefanti, A., Weitere Untersuchungen über alimentäre Albuminurie. Ebd. 1903, Nr. 41.

Ascoli, M. u. Vigano, L., Zur Kenntnis der Resorption der Eiweißkörper. Hoppe Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie 1903, Bd. XIL, Heft 3 u. 4.

Austin, Limitation of the Uhlenhuth test for the differentiation of human blood. Boston med. and surg. Journ., Vol. CXIIX, pag. 279—281.

*Baier, E. und Reuchlin, E., Über den Nachweis von Pferdefleisch mittels des biologischen Verfahrens. Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1908, Bd. XV, Heft 9.

Bail, Versuche über Typhusagglutinine u. Präzipitine. Arch. f. Hyg. 1902, Bd. XLII.

Balthazard, V., La réaction précipitante des serums en médecine légale. Gaz. des hôpitaux. 31. Mars 1905, pag. 363.

Bashford, Note on toxic and antitoxic action in vitro and in corpore. Journ. of Path. and Bact. 1902, Vol. III, pag. 59.

Bastero Lerga, J., Procedimento biologico para el Reconocimento Médico-legal del origen de las Manchas de Sangre. M. Escar. Zaragoza 1902.

Batelli, L'anaphylaxie vis à vis des globules sanguins chez les animaux immunisés. Soc. de biol., 11. März 1905, Tome LVIII, pag. 450.

Bauer, J., Über die Spezifität der biologischen Eiweißdifferenzierung. Arbeiten aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt. Heft 3, 1907.

*Behre, A., Der Nachweis von Pferdefleisch in der Wurst. Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1908, Bd. XV, Heft 9.

Behring, Deutsche med. Wochenschr. 1900.

Ders., Das neue Diphtherieheilmittel. Verlag von O. Häring, Berlin 1894.

Behring und Wernicke, Zeitschr. für Hygiene 1892, Bd. XII. pag. 10.

Beljaeff, Über die Bedingungen der Bildung spez. Kraussscher Niederschläge. Centralbl. für Bakt., Bd. XXXII.

Benjamin und Sluka, Antikörperbildung nach experimenteller Schädigung des hämatopoetischen Systems durch Röntgenstrahlen. Wien. klin. Wochenschr. 1908, Bd. XXI, pag. 311—313. 5. März.

Berestneff, Russ. Wratsch 1905, Nr. 22.

Bertarelli, Die Verwendung der biol. Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke, Centralbl. für Bakt. 2. Abtlg. 1903, Bd. XI, Heft 38.

Ders., Untersuchung über die Zubereitung von Koagulinen auf gastrischem Wege. Centralbl. für Bakt. 1909, Bd. XLVIII, Heft 5.

Bettencourt, N., La réaction Bordet-Gengou est-elle valable pour le diagnostic du Kyste hydatique? Archives do Reol. Instit. Bacteriol. 1909, Tome II, F. III.

Beumer, Die Untersuchung der Menschen- und Tierknochen auf biol. Wege. Zeitschr. für Medizinalbeamte, 1902, Heft 23.

Ders., Verhandl. d. Ver. deutscher Naturforscher u. Ärzte, Breslau. 19. Sept. 1903.

Binda, Sulla diagnosi spezifica del sangue. Giornale di medic. legale 1901, Nr. 2 (11. 3. 1901) und November-Dezember.

Biondi, Beitrag zum Studium der biol. Methode für die spez. Diagnose des Blutes. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätsw. 1902. 3. Folge. Bd. XXIII.

Bonome, Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel d. Tuberkulose u. zur Diff. zwisch. Menschen- u. Rindertuberkulose. Centralbl. für Bakt. usw. Originale. Bd. XLIII, Heft 4, 1907.

*Borchmann, K., Notwendigkeit der Untersuchung von mit Pferde-, Hunde-, Hirsch-, Renntierfleisch usw. verfälschten Fleisch- und Wurstwaren mittels d. sog. biol. Methode durch Tierärzte. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1906, H. 3, XVI. Jahrg.,

Ders., siehe Weidanz.

Ders., Biologische Kurse: Berliner tierärztl. Wochenschr. 1902, Nr. 2.

Bordet, Sur l'agglutination et dissolution des globules rouges. Ann. Pasteur 1899.

Ders., Les sérums hémolytiques leur antitoxins et les théories des sérums cytolytiques. Ibid. 1900.

Ders., Bull. Soc. Royal Science Méd. et Nat. Bruxelles. Vol. LIX, pag. 174—176.

Brezina, Über die Spezifität des Kotes und die Unterscheidung verschiedener Kotarten auf biologischem Wege. Wiener klin. Wochenschr. 1907, pag. 650.

Bruck, C., Über spez. Immunkörper gegen Gonokokken. Deutsche med. Wochensch. 1906, Nr. 34.

Ders., Zur forensischen Verwertbarkeit u. Kenntnis des Wesens der Komplementbindung. Berliner klinsche Wochenschr. Nr. 47, 1907.

Ders., Die biolog. Differenzierung von Affenarten und menschlichen Rassen durch spezifische Blutreaktion. Berliner klin. Wochenschr. 1908, Heft 26, pag. 793. (Juli.)

Buchner und Geret, Über ein kristallinisches Immunprodukt. Münchener med. Wochenschr. 1902.

Bürker, Über den Nachweis des Hämoglobins und seiner Derivate durch Hämochromogen Kristalle und die im violetten oder ultravioletten Teile des Spektrums dieser Farbstoffe gelegenen Absorptionsstreifen. Münchner med. Wochenschrift 1903, Nr. 3.

Butza, Un nouveau moyen pratique pour distinguer le sang de l'homme. Compt. rend. de la soc. de biol. Tome LIV, pag. 406—407, 12. April 1902; Zeitschr. für Medizinalbeamte 1903, Nr. 13 (1. Juli).

Camunety, Rivista Chilene de hygiena, 1902.

Camus, Spécifité et condition d'action des précipitines. Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. 6. Juli.

Camus und Gley, Arch. internat. de Pharmacodyn., 1899, Tome V, pag. 247; Ann. Pasteur, 1899.

Cantacuzène, Sur l'origine des précipitines. Soc. de biol. 1907, Tome LXIII, pag. 393. 8. Nov.

Ders., Sur la formation de substances précipitantes pour le sérum chez des lapins qui ont reçu une injection d'aleurone dans le péritoine. Soc. de biol. 1907, Tome LXIII, pag. 429. Nov.

Ders., Apparition de précipitines dans le sang consecutivement à l'inoculation de sérum normal par la voie stomachale. Soc. de biol. 1907, Tome LXIII, livr. 29. Oct.

Ders., Recherches sur l'origine des précipitines. Ann. de l'Inst. Pasteur 1908, 1.

Capogroski, Isoagglutinine et isolisine del siero umano. Ann. d'igiene sperim. 1903.

Carnwath, Zur Technik der Untersuchung kleinster Blutspuren. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1907, Bd. XXVII, Heft 2.

Carrara, M., Sulla diagnosi specifica sangue umano. L'arte med. 1901, Nr. 33 u. 34.

Carrara, M., Siero precipitante specifico per il sangue ottenuto mediante inezioni di nucleoproteidi. Rivista critica di Clin. med. Vol. III, 1902, Nr. 37.
Ders., Di un nuovo metodo par la diagnosi specifica di sangue umano. Arch. di Psych. Med. legale ed Anthrop. crim., Vol. XXV, fasc. III, 1904.
Castellani, Some experiments on the precipitins. Lancet, 28. Juni 1902; Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 32.
Castaigne und Bathery, Compt. rend. de la soc. de biol. 1902, pag. 568.
Castronuovo, Sulla formazione di Anticorpi in seguito di glutine vegetale. Rif. med. 1907, Bd. XXII, Heft 34.
Centanni, Über Autocytopräzipitine u. über eine allgemeine Form derselben. Centralbl. für Bakt. Bd. XXXV, 1904.
Ders., Lo Speriment, 1902.
Ders., Rif. med. Vol. IV, 1900—1902.
Chirokikh, Wratsch, 1901, Nr. 29.
Chiò, Il sangue del Urang-utan più affine al sangue dell'uomo che a quello della scimmia non antropoido. Med. R. Acad. Sc. 1906, Bd. XLI, Nr. 13.
Citron, H., Diskussionsbemerkung auf dem 3. Kongreß der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Juni 1909.
Commentz, Alfredo, Sobre las Lisinas i Precipitinas del suero anti-hematico. Nuovo metodo biologico de reconocimento i differenciasion de sangues, albuminas i carnas. Puplicato en la „Revista Chilena de Hijiene" 1902.
Corin, Zur prakt. Verwertung der Serodiagnostik des menschl. Blutes. Arch. d'anthropol. criminelle 1901, Tome XVI, Nr. 94; Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. u. öff. San. Bd. XXIII, 1 Heft.
Corin, Le séro-diagnostic du sang, Ann. de la Soc. de Med. lég. de Belgique 1901.
Creite, Versuche über die Wirkung des Serumeiweißes nach Inj. in das Blut. Zeitschr. für rat. Med., Bd. XXXVI.
Daske, O., Zur Unterscheidung des Menschenblutes vom Tierblut nach van Ittallie Ärztliche Sachverständigen-Zeitung 1907, Nr. 14.
Dehne, R., Die spez. Löslichkeit u. ihre Anwendung bei der forens. Blutuntersuchung. Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 8.
Demees, Précipitines et Précipitables Cellule 1907, Tome XXIV, pag. 315.
Dennstedt und Voigtländer, Der Nachweis von Schriftfälschungen, Blut, Sperma usw., Baumerts Lehrb. der gerichtl. Chemie 1906, Bd. II.
Deutsch, Le diagnostic de tâches de sang. 13 Congr. intern. de méd., Paris 1900.
Ders., Zur Diagnose d. menschl. Blutkörperchen, Deutsche med. Wochenschr. 1901.
Ders., Die forensische Serumdiagnose d. Blutes. Centralbl. für Bakt. usw. 1901, Bd. XVI.
Dieudonné, Beiträge z. biol. Nachweis v. Menschenblut. Münch. med. Wochenschr., 1901, Nr. 14.
Ders., Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie. Zusammenfassende Übersicht über die Immunitätslehre. Verlag J. A. Barth, Leipzig 1903 und Würzburger Abhandlungen 1901, Bd. I, Heft 8.
Dürck, H., Neuere Forschungen über Eiweiß, Blut und Blutsverwandtschaft. Vortrag in der Anthropolog. Gesellschaft in München 25. Januar 1907.
v. Dungern, die Antikörper. Verlag v. G. Fischer, Jena, 1903.
Ders., Bindungsverhältnisse bei der Präzipitinreaktion. Centralbl. f. Bakt. 1903, pag. 355.
Ders., Spezifität der Antikörperbildung. G. Fischer, Jena 1904.
Ders., Uber die Kellingsche Karzinomtheorie, Internationale Konferenz für Krebsforschung zu Heidelberg-Frankfurt a. M. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 41, pag. 2029.
Ehrnrooth, E., Über praktische Bedeutung der Alexinfixation (Komplementablenkung) für die forensische Blutdifferenzierung. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. etc. 1906, Heft 12.
Ehrlich, On Immunity with special reference to Cell-Life. Croonian lecture. Proceed of the Royal Society 1900, Vol. LXV, pag. 424.
Ehrlich, Neisser und Sachs, Bericht über das Neisser-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch. 1908, Bd. XIX.
Einhorn, Über eine neue Blutprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 27.
Eisenberg, Beiträge z. Kenntnis der spez. Präzipitationsvorgänge. Bull. acad. de soc. de biol. Mai 1902.
Ders., Untersuchungen über spez. Präzipitationsvorgänge. Centralbl. f. Bakt. usw. 1902, I. Abt. Bd. XXXI, Nr. 15.
Ders., Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination u. Präzipitation I u. II. Centralbl. für Bakt. usw. Abt. Originale. Bd. XLI, Heft I u. III.

Eisenberg und Volk, Untersuchungen über Agglutination. Zeitschr. für Hygiene 1902 u. Wiener klin. Wochenschr. 1901, pag. 1221.
v. Eisler, Über die Konservierung präzipitierender Sera auf Papier. Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
Ders., Über die Spezificität der Bakterienpräzipitine. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 13, März 1907.
v. Eisler und Porges, Über die Differenzierung der Kapselbakterien mittels Agglutination und Präzipitation. Centralbl. für Bakt. 1906.
Emmerich, Oxychinaseptol oder Diaphtherin, ein neues Antiseptikum. Münchener med. Wochenschr. 1892, pag. 315.
Engel, Über einen Versuch mit Hilfe des Blutserums Karzinomatöser einen Antikörper herzustellen. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 48; Zeitschr. für klin. Med. Bd. LIV, Heft 1 u. 2.
Ewing, Differentiation of monkey and human blood by the serum test. Proc. New-York, path. soc. IV. S., Vol. III, pag. 14—22, 1903.
Ewing und Strauss, Limits of the specific reaction in the serum test for blood. New-York path. soc. 1903.
Falloise, Contribution à l'étude des sérums précipitants. Ann de l'Inst. Pasteur 1902.
Farnum, The biological test for semen. Transactions of the Chicago path. soc. 1901, 9. Derember. Bd. V, Nr. 3.
Ders., The journ. of the American Medical Association 1901. Sep.-Abdr. (28. Nov. 1901).
Ferrai, Carlo, Sulla diagnosi specif. del sangue col metodo biologico in medicina legale. Estrato dal Bolletino della R. Accademia Medica di Genova Ann. 1901, Bd. XVI, Nr. 7.
Ferreira da Silva und Alberto d'Aguiar, L'examen Médico-légal des taches de sang et spécialement la Méthode d'Uhlenhuth, Lisbonne, XV. Congrès internat. de médecine 1906. 19.—26. Avril.
*Fiehe, J., Über den Nachweis von Pferdefleisch in Fleisch- und Wurstwaren mittels der Präzipitinreaktion. Zeitschr. für die Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1907, Bd. XIII, pag. 744.
Ders., Über eine erweiterte Anwendung der Präzipitatreaktion. Zeitschrift für die Untersuchung der Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XVI, Heft 9 (1. Nov. 1908).
Fischer, B., Jahresbericht d. chem. Untersuchungsamtes d. Stadt Breslau 1901/02. J. Springer, Berlin 1903.
Fish, Studies on lactoserum and other Cell-sera. Courier of med. St. Louis 1900. Febr.
Fleckseder und Stejskal, Biologische Reaktionen mit Bandwurmextrakt. Wiener klin. Wochenschr. 1904, pag. 793.
Fleischmann, P. und Michaelis, L., Die Formulierung der Präzipitinreaktion nach Hamburger und Arrhenius. Biochemische Zeitschr. 1907, Bd. III, Heft 5 u. 6.
Ford, Beiträge zur Lehre von den Hämagglutininen. Zeitschr. für Hyg. und Infektionskrankh. 1902, Heft 2.
Fornet, W., Über den Nachweis des Bakterienpräzipitinogens im Organismus. Centralbl. für Bakteriologie 1907, Bd. XLIII. Originale.
Ders., Die Präzipitinreaktion. Münchener med. Wochenschr. 1906, pag. 1682.
*Fornet und Müller, Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch. Zeitschr. für biolog. Technik, Bd. I, Heft 3.
Forssner, Über die Möglichkeit isolierte Eiweiweißkörper bzw. eiweißhaltige Flüssigkeiten, welche aus einem und demselben Organismns stammen, durch die Präzipitinreaktion zu differenzieren. Münchener med. Wochenschr. 1905, Nr. 19.
*Frassi, A., Zum Nachweis des Glykogens in den Pferdemuskeln. Clin. Veterinaria 1905, pag. 265.
Ders., Sitzungsbericht d. kgl. preuß. Akad. d. Wissenschaften zu Berlin, Bd. XXXV.
Friedberger, E., Zur forens. Eiweißdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittels Komplementablenkung nebst Bemerkungen über die Bedeutung des Präzipitats für dieses Phänomen. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 15.
Ders., Über das Verhalten der Präzipitate gegenüber der Fäulnis. Centralbl. für Bakt. 1907, Bd. XLIII, pag. 490. März.
Friedenthal, Über einen experimentellen Nachweis von Blutsverwandtschaft. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1900. Sitzungsbericht der Kgl. preuß. Akad. der Wissenschaften zu Breslau, Bd. XXXV. (Vorgetragen in der Sitzung der Physiolog. Gesellschaft zu Berlin am 12. Jan. 1900.)
Ders., Weitere Versuche über die Reaktion auf Blutsverwandtschaft. Berliner klin. therap. Wochenschr. 1904, Nr. 12.

Fuhrmann, Über Präzipitine u. Lysine. Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 1903, Bd. III.
Fuld, Über das Bordetsche Laktoserum. Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 1902, Bd. II.
Ders, Über die Kellingsche Serumreaktion bei Karzinomatösen. Berliner klin. Wochenschr. 1905, Nr. 18.
Fürstenberg, Über spezifische Präzipitinbildung nach Menschenkotinjektionen. Berliner klin. Wochenschr. 1908, Nr. 2.
Gaffky und Wassermann, Bericht über das Neisser-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch. Bd. XIX., 1908.
Galli-Vallerio, Die Agglutination der roten Blutkörperchen des Menschen durch homologe u. heterologe Sera u. ihre Verwendung in der gerichtl. Med. Allgem. Med. Central-Zeitung 1905, Nr. 3.
Ganghofner und Langer, Über die Verwertbarkeit des Phänomens der Komplementablenkung zum Nachweis von artfremden Eiweiß im Blut. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
Dies., Über die Resorption genuiner Eiweißkörper im Magendarmkanal neugeborener Tiere und Säuglinge. Münchener med. Wochenschr. 1904, Nr. 34, pag. 1497.
Gasis, D., Über die Unterscheidung verschiedener Pflanzeneiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Berliner klin. Wochenschr. 1908, Nr. 7.
*Gay, A contribution to the forensic value of the musculo-precipitin test. Journal of med. Res. 1908, Vol. XIX, pag. 219—224. July.
Gengou, Sur les substances sensibilatrices des sérums actifs contre les snbstances albuminoides. Ann. de l'Inst. Pasteur 1902, Bd. XVI, pag. 25.
Geret, Der Fleischsaft „Puro". Münchener med. Wochenschr. 1908, Nr. 17.
Graham-Smith, The biological or precipitin test for blood considered mainly from its medico legal aspect. Journ. of hygiene 1903, Vol. III, pag. 354—363.
Graham-Smith und Sanger, ibid. pag. 258—290.
Grigorjew, Zur Frage der Technik bei d. Untersuchung von Blut- und Samenflecken in gerichtl. med. Fällen. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen 1902, Bd. XXIV, Heft 1.
*Gröning, Nachweis des Pferdefleisches durch ein spezifisches Serum. Zeitschr. für Fleisch- u. Milchhygiene 1902, 13. Jahrgang. Heft 1. Oktober.
*Ders., Berliner tierärztl. Wochenschr. 1903, Nr. 12.
Gruber und Horiuchi, Münchener med. Wochenschr. 1908, Nr. 17.
Grund, G., Über organspez. Präzipitine und ihre Bedeutung. Deutsche Arch. für klin. Medizin 1906, Bd. LXXXVII.
Grünbaum, Note on the „Blood-Relationsship" of man and the anthropoid apes. The Lancet, 1902, Jan., pag. 143.
Haan, de, Over de onderzoek van bloedvlekken. (Über die Untersuchung von Blutflecken). Geneskundig Tydskrift van Neederlandsch Indie deel 48, aflevering 3, 1908. Ref.: Arch. für Schiffs- u. Tropenhygiene 1909, Bd. XIII, Heft 1.
Händel und Hüne, Über die Konservierung agglutinierender Sera. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1908, Bd. XXIX, Heft 1.
Hahn und Tromsdorff, Über Agglutinine. Münch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 13.
Halban und Landsteiner, Über Unterschiede des fötalen u. mütterl. Blutserums u. über eine agglutinations- und fällungshemmende Wirkung d. normalen Serums. Münchener med. Wochenschr. 1902, Nr. 21.
Dies., Zur Frage der Präzipitationsvorgänge. Centralbl. für Bakt, Bd. XXXII, Nr. 2. Original.
Hamburger, F., Biologisches über die Eiweißkörper d. Kuhmilch und über Säuglingsernährung. Wiener klin. Wochenschr. 1900, Nr. 49.
Ders., Zur Frage der Immunisierung gegen Eiweiß. Wiener klin. Wochenschr. 1902, Nr. 45.
Ders., Arteigenheit und Assimilation. Wien 1903.
Ders., Zur Differenzierung des Blutes (Eiweiß) biologisch verwandter Tierspezies. Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 6.
Ders., Biologisches über Säuglingsernährung. Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 5, pag. 216.
Ders., Über Antitoxin und Eiweiß. Münchener med. Wochenschr. 1907, Nr. 6.
Hamburger und Moro, Über die biolog. nachweisbaren Veränderungen des menschl. Blutes nach Seruminjektion. Wiener klin. Wochenschr. 1903, Nr. 15.
Hamburger und v. Reuss, Die Folgen parenteraler Injektion von verschiedenen genuinen Eiweißkörpern. Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 31, pag. 859.

Hamburger und Sperk, Biologische Untersuchungen über Eiweißresorption vom Darm aus. Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 23.
Hammerl, Untersuchungen über einige den Blutnachweis störende Einflüsse. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. 1892, 3. Folge, Bd. IV.
Hauser, G., Über einige Erfahrungen bei Anwendung der serodiagnostischen Methode für gerichtl. Blutunters. Münchener med. Wochenschr. 1904, Nr. 7.
Ders., Entgegnung auf den Artikel A. Wassermann: „Gibt es ein biologisches Differenzierungsverfahren für Menschen- und Tierblut mittels der Präzipitine. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 16.
Ders., Über die Leistungsfähigkeit des Uhlenhuthschen serodiagnostischen Verfahrens bei Anwendung der Kapillarmethode. Festschrift für J. Rosenthal 1906.
Heyrowski, Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae. Zentralbl. für Bakt. 1905.
Hewlett und Rowland, A new quantitative method for serum diagnosis. Transactions ot the Path. Soc. of London. Vol. LV, pag. 138.
Hoke, Über Bakterienpräzipitation durch normale Sera. Wiener klin. Wochenschr. 1907, Nr. 12.
Honl, Über d. biol. Untersuchungen v. verschiedenen Blutarten. Wiener klin. Rundschau 1901, Nr. 27.
Horiuchi, Diätetische Nährpräparate vor dem Forum der spezifischen Präzipitation. Münchner med. Wochenschr. 1907, pag. 700.
v. Horn, Über d. Einfluß der Temperatur auf die Präzipitinreaktion. Inaug.-Diss. Würzburg 1903. Ref. Biochem. Zentralbl. 1904, Nr. 2, pag. 84.
Horrocks, A mean of distinguishing goats milk from cow's milk. The veterinary journal 1909, Vol. LXV. Nr. 404.
*Hüne, Die Anwendung des biologischen Verfahrens zum Eiweißnachweis in Fettgewebe und ausgelassenem Fett (Schmalz). Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1908, Bd. XXVIII, Heft 3.
Jacobsthal, Über trockene Konservierung agglutinierender u. präzipitierender Sera. Arch. für Hygiene 1904, Bd. XLVIII.
Jacoby, Über Rizinimmunität. Beiträge zur chemischen und physiologischen Pathologie I, 1901.
Jde, Über Antikörper d. chem. reinen Eiweißes. Fortschr. d. Med. 1901, Bd. XIX.
Ders., Hémolyse et Antihémoglobine. La cellule, Tome XX, 2a fascicule, 27. Juli 1902.
van Jtallie, „On the differentiation of fluids of the body, containing proteid.“ Koninklyke Akademie van westenschappen te Amtserdam; Bericht d. deutschen pharm. Gesellsch. 1906, Bd. XVI, Heft 2, pag. 60.
Ders., „On catalases of the blood“. Ibid. 1906.
Jeserich, Untersuchung mit Blutserum. Vortrag auf der 8. ordentl. Hauptversammlung des Verb. selbständiger öffentl. Chemiker 28.—29. Sept. 1903 zu Hannover. Zeitschr. für öffentl. Chemie 1903, Heft 20.
*Jess, Anleitung zum Nachweis von Wurstverfälschungen mit Pferdefleisch für gerichtliche Zwecke durch das biologische Eiweißpräzipitierungsverfahren. Berliner tierärztl. Wochenschr. 1903, Nr. 23.
Kamen, Über die biologische Methode des forens. Blutnachweises. Wiener med. Wochenschr. 1904, Heft 33—35.
Katayama, Über das forens. wichtige Verhalten von Blutspuren etc. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. 1888, Bd. LIX.
Kelling, Die Ursache, die Verhütung und die Blutserumdiagnose der Magen- und Darmkrebse. Münchner med. Wochenschr. 1904, Nr. 43.
Kentzler, Weitere Untersuchungen über die Arteigenheitsverluste der körperfremden Eiweißstoffe. Berliner klin. Wochenschr. 1907, Bd. XLIV, pag. 1159.
Kister und Weichardt, Weiterer Beitrag zur Frage des biologischen Blutnachweises. Zeitschr. für Medizinalbeamte 1902, Nr. 20.
Kister und Wolff, Zur Anwendbarkeit des serodiagnost. Blutprüfungsverfahrens. Zeitschr. für Hygiene 1902, Bd. 41.
Dies., Zur Anwendung der Uhlenhuthschen Reaktion. Zeischr. für Med. Beamte 1902, Heft 7.
Klein, A., Zur Kenntnis d. Agglutinine und gewisser Präzipitine des Blutes. Wiener klin. Wochenschr. 1903, Nr. 5/6.
Ders., Zur Frage d. Antikörperbildung. Wiener klin. Wochenschr. 1902, Nr. 29.
Ders., Über Resultate von Immunsierungen mit getrennten Bestandteilen des Blutes. Wiener klin. Rundschau 1904, Nr. 24.
Ders., Über Erythropräzipitin u. andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes. Zentralbl. für Bakt. 1905, Bd. XXXIX, Heft 3 u. 4.
Ders., Über die Spezifität d. Erythropräzipitine. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 41.

Kluck und Jnada, Ein Beitrag zur Spezifität der Präzipitine. Deutsches Arch. für klin. Med. Bd. LXXXI, pag. 411.
Kobert, H. U., Das Wirbeltierblut in mikrokristallographischer Hinsicht 1901. Verlag von Enke.
Kockel, in Schmidtmanns Handbuch d. gerichtl. Medizin. Verlag Hirschwald, Berlin 1905, pag. 763 ff.
Ders., Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Vortrag. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 3.
König, Über den Wert des Uhlenhuthschen Blutnachweises für die gerichtliche Medizin. Reichs-Medizinal-Anzeiger, XXX. Jahrg., 6. Januar 1905.
Körber, Die Differenzen des Blutfarbstoffes. Inaug.-Diss. Dorpat 1866.
Kowarski, Über den Nachweis von pflanzl. Eiweiß auf biol. Wege Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 27.
Kratter, Über den forens. Wert der biol. Methode zur Unterscheidung v. Tier- u. Menschenblut. Arch. für Kriminalanthrop. u. Kriminalstatistik 1902, Bd. X; Wiener klin. Wochenschr. 1901. Naturforscher-Versammlung, Breslau 1904 (Diskussion).
Kraus, R., Über spez. Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-Typhus-Pestbazillenkulturen, erzeugt d. homol. Serum. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 32.
Ders., Über spezifische Niederschläge. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann.
Kraus, R., Über biologische Reaktionen. Monatschr. für Gesundheitspflege 1902, Nr. 7 und 8.
Ders., Über die diagnostische Verwertbarkeit der spez. Niederschläge. Wiener klin. Wochenschr. 1901, Nr. 29.
Ders., Zur Theorie der Agglutination. Zeitschr. für Heilkunde 1902.
Kraus und Eisenberg, Über Immunisierung mit Immunsubstanzen. Centralbl. für Bakt. 1902, Bd. XXXI, Nr. 5.
Kraus und Joachim, Über Beziehungen d. präzipitinogenen Substanz zum Agglutinogen d. Bakterien. Centralbl. für Bakteriologie.
Kraus und Levaditi, Sur l'origine des précipitinins. Comp. rend. des seances de l'ac. der sc. 1904.
Kraus und v. Pirquet, Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. Centralbl. für Bakt. 1902, Bd. XXXII.
Kraus, v. Portheim und Yamanouchi, Biologische Studien über Immunität bei Pflanzen. I. Untersuchungen über die Aufnahme präzipitierbare Substanz durch höhere Pflanzen. Sep-Abdr. aus den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1907, Bd. XXV, Heft 7. Vorläufige Mitteilung.
Kraus und Schiffmann, Sur l'origine des anticorps Précipitines et Agglutinines. Ann. de l'Inst. Pasteur 1906, Tome XX, pag. 225—239.
Kraus und Wilenko, Über das Verhalten der Cholerastühle gegenüber Serum und Kotpräzipitin. Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 2.
Krückow, Über eine neue Methode zur Unterscheidung des Blutes von Menschen und Tieren. Vortrag in d. Gesellschaft v. Freunden d. Naturkunde 1901.
Kullmann, Über Hämolyse durch Karzinomextrakte. Berliner klin. Wochenschr. 1904 Nr. 8; Zeitschr. für klin. Med. Bd. LIII.
Kurtek, Adalbert, Verfahren, Sera für den Nachweis bestimmter Blutarten herzustellen. Patentiert im Deutschen Reiche vom 4. Oktober 1902 ab. Patentschrift Nr. 147 782. Klasse 30 h.
Kürbitz, Der forensische Blutnachweis des Hämochromogens und seiner Kristalle. Ärztl. Sachverständigen-Ztg. 1909, Nr. 7.
Lamb, On the precipitin for cobra venom . . . The Lancet, Vol. II, pag. 431—435.
Landsteiner, K., Über Serumagglutinine, Münchener med. Wochenschr. 1902, Nr. 40.
Ders., Über Beziehungen zwischen den Blutserum u. den Körperzellen. Ibid. 1903, Nr. 42.
Landsteiner und Calvo, Zur Kenntnis der Reaktionen des normalen Pferdeserums. Centralbl. f. Bakt. 1902, Bd. XXXI, Nr. 15.
Landsteiner und v. Eisler, Über die Präzipitinreaktionen d. menschl. Harns. Wiener klin. Rundschau, Bd. XVII, pag. 10.
Dies., Zur Arbeit von Hans Friedenthal: „Weitere Versuche über die Reaktion auf Blutverwandtschaft. Wiener klin. therap. Wochenschr. 1904, Nr. 24.
Landsteiner und Richter, Über die Verwertbarkeit individueller Blutdifferenzen für die forens. Praxis. Zeitschr für Medizinalbeamte 1903, Heft 3.
Landsteiner und Jagic, Über die Verbindungen und die Entstehung von Immunkörpern. Münchener med Wochenschr. 1903, Nr. 18.

Langer, Zur Resorption des Erstkolostrums. Bericht über die Tagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde. Dresden, Sept. 1907. Jahrb. für Kinderheilk. 1907, Bd. LXVI, pag. 454.
Ders., Zur Frage spezifischer Antikörper im Organismus vom Bandwurmwirten. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 52, pag. 1665.
Layton, The medico legal test of blood stains. Trans. of the Chicago path. soc., Vol. V, pag. 217—222.
Leblanc, Contribution à l'étude de l'immunité acquise. La Cellule 1901, 31. Mai, Tome XVIII, 2 fasc.
Ders., Nouvelle méthode pour la diagnose de sang humaine en méd. lég. (Réaktion Bordet-Uhlenhuth) (Monographie.) Paris, Vigot frères, éditeurs, 1903.
Lecha Marzo, Sobre el diagnostico generico de las manchas de sangre. Gazetta medica del sur de España. 5. Dez. 1908; vgl. auch Zeitschr. für Medizinalbeamte 1908, Nr. 16, pag. 584.
Leclainche und Vallée, Notes sur les anticorps albumineux. La sém. méd. 1904, Nr. 4 u. Compt. rend. de la soc de biol. 1901, Jan.
Leers, O., Methoden und Technik der Gewinnung, Prüfung und Konservierung des zur forensischen Blut- bzw. Eiweißdifferenzierung dienenden Antiserums. Verlag von R. Schoetz, Berlin 1908.
Ders., Zum spektroskopischen Nachweis kleinster Blutspuren. Vortrag auf der 80. Vers. Deutscher Naturforscher u. Ärzte zu Köln, 21. Sept. 1908. Vierteljahrschrift für gerichtl. Medizin, Bd. XXXVII. II. Suppl.-Heft 1909.
Ders., Eine quantitative Blutbestimmung. Ebenda.
Lerga, Bastero, Conferencia teorica-practica dada en la facultad. de med. de Zaragoza,
Levene, On the biological relationship of proteid. Med. news (New-York), Vol. LXXIX, pag. 981—982 (21. 12. 1901); Deutsche med. Wochenschr. 1903. Jour. of Med. Res. Vol. XII, pag. 195—203.
Levy und Bruns, Berliner klin. Wochenschr. 1897, Nr. 23.
Lewin und Rosenstein, Untersuchungen über d. Häminprobe. Virchows Archiv, Bd. CXLII.
Liefmann, H., Über die Komplementablenkung bei Präzipitationsvorgängen. Berliner klin. Wochenschr. 1906, Nr. 15.
Liepmann, W., Über ein für menschl. Plazenta spez. Serum. Deutsche med. Wochenschrift 1902, Nr. 51; 1903, Nr. 5 u. 22.
19. Maja 1902.
Linossier, Sur la recherche medico-légale de l'origine du sang à l'aide des sérums précipitants (Arch. de Méd.) Sém. méd. Tome XXII, pag. 104.
Linossier und Lemoine, Sur les substances précipitantes des albumines (précipitins contenus dans certains sérums spécifiques). Compt. rend. de le soc. de biol. 1902, Tome LIV, pag. 85.
Dies., Sur quelques conditions de l'action des sérums précipitants. Ibidem pag. 320 bis 322.
Dies., Sur la specificité des sérms précipitants. Ibidem pag. 369—372.
Dies., Utilisation des sérums précipitants pour l'étude de certains albiminuries. Ibid., pag. 415—417.
Dies, Essai de différenciation des albumines du sérum chez les animaux de même espèce, mais de races differentes. Soc. de biol., 18. Jan. 1907, Tome LXII, pag. 4—6.
Dies., Sur la spécifité des sérums précipitants. Ibid. 1902, 8. März.
Lisle, J., The identification of human blood. New-York med. Journ. Nr. 81, pag. 456 (13. 9. 1902).
Lochte, Demonstration des Nachweises von Menschenblut; Göttinger psychologisch-forensische Vereinigung 1. Nov. 1907. Monatsschrift für Kriminalpsychiatrie u. Strafrechtsreform 1907 (Carl Winters Universitätsbuchhandlung Heidelberg).
Loele, Über die Anwendung von Formalin bei dem Uhlenhuthschen Verfahren. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 22.
Löffler, Über ein neues Verfahren z. Gewinnung von Antikörpern. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 52, pag. 1913.
Ders., Diskussionsbemerkung zu dem Vortrage von Weidanz: Über die Konservierung präzipitierender Sera. 2. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908. Centralbl. für Bakt. usw. 1. Abt. Referate. Bd. XLII, Beiheft 1908.
Löffler und Uhlenhuth, Bericht über das Neisser-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch 1908, Bd. XIX.
Löwenstein, Über die Bedeutung d. cellulären Immunität. Prager med. Wochenschr. 1901, pag. 374.

Lusini, Lievo precipitante per l'appio, Atti R. Academ. sc. Fisiocritici Ser. IV, Vol. XVIII; s. Biochem. Centralbl. 1906 Bd. V, pag. 444.
Magnus und Friedenthal, Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. Berichte der Deutsch. Bot. Gesellschaft 1906, Bd. XXIV, H. 10.
Maragliano, La modalità di presipitazione degli anticorpi e la sua applicazione in patologia. Gazz. d. Osp. 1904, Nr. 124; Berliner klin. Wochenschr. 1904, Nr. 27.
Ders., Cancroprecipitine e loco applicazione alla diagnosi precore du carcinoma gastrico Rif. med. 1907, Bd. XXII, Nr. 33.
Markl, Zur Agglutination der Pestbazillen. Centralbl. für Bakt. 1901, Bd. XXIX.
Marhall und Teague, A study of the precipitin and complement fixation Reactions. The Philippine Journal of Science. Vol. III, Nr. 5. November 1908.
Martin, Ed., Isoagglutination beim Menschen, nebst einer Bemerkung zur Marx-Ehrenroothschen Blutdifferenzierungsmethode. Centralbl. für Bakt. etc. 1905, Abt. Origin., Bd. XXXIX, Heft 6.
Ders., Versuche über den Einfluß einer intravenösen Injektion von Plazentarsubstanz auf den eigenen Organismus beim Kaninchen. Monatsschrift für Geburtshilfe und Gynäkologie, Bd. XXIV, Heft 5.
Marx und Ehrenrooth, Eine einfache Unterscheidung von Menschen- und Säugetierblut. Münchener med. Wochenschr. 1904, Nr. 7 u. 16.
Marx, Der forens. Blutnachweis. Berliner klin. Wochenschr. Nr. 10.
Ders., Demonstration eines Verfahrens zur forenischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. XXI. Hauptversammlung d. Preuß. Med. Beamtenvereins. Zeitschrift für Med. Beamte.
Ders., Praktikum der gerichtl. Medizin. Verlag v. A. Hirschwald, Berlin 1907.
Merkel, Über die Verwertung der Präzipitin-Reaktion. Münch med. Wochenschr. 1904.
Ders., Über die Verwendung v. Formalinlösungen bei der Uhlenhuthschen Blutuntersuchung. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 31.
Ders., Kleinere technische Winke für die Praxis der Uhlenhuthschen Blutuntersuchung. Münchener med. Wochenschr. 1908, Nr. 18.
Mertens, Ein biolog. Nachweis für die Herkunft des Albumins in Nephritisharn aus dem Blute. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 11.
Ders., Beiträge zur Immunitätsfrage, Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 24.
Ders., Die neue Methode des Menschenblutnachweises. Wiener klin. Rundschau 1902, Nr. 9.
Metalnikoff, Über hämolytisches Serum d. Blutfütterung. Centralbl. für Bakt. etc. 1901, Bd. XXIX.
Metschnikoff, L'immunité, Paris 1902.
Meyer, J., Über die biologische Untersuchung von Mumienmaterial vermittels der Präzipitinreaktion. Münchener med. Wochenschr. 1904, Nr. 15.
Meyer und Aschoff, Über die Rezeptoren der Milcheiweißkörper. Berliner klin. Wochenschr. 1901, Bd XXIX.
Michaelis, L., Untersuchungen über Eiweißpräzipitine. Verhandl. d. Vereins f. innere Med. 1901/02; Centralbl. für Bakt. Bd. XXXII, Nr. 6; Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 41; Berliner klin. Wochenschr. 1902, Nr. 21.
Ders., Über Hemmungen der Präzipitinreaktion, Hofmeisters Beiträge z. Phys. u. Path. 1903.
Ders., Inaktivierungsversuche mit Präzipitinen. Centralbl. für Bakt. Bd. XXII, pag. 458.
Ders., Die Bedeutung d. Präzipitinreaktion f. d. Ernährungsphysiol. Zeitschr. für diät. u. physikal. Ther. 1902/03. Bd. VI, Heft 10.
Ders., Weitere Untersuchungen über d. Eiweißpräzipitine. Zeitschr. für klin. Med. Bd. LVI, Heft 5 u. 6.
Ders., Die Bedeutung d. Präzipitine, Hämolysine u. Cytotoxine für d. Klinik. Die deutsche Klink 1905, pag. 347.
Michaelis und Oppenheimer, C., Über Immunität gegen Eiweißkörper. Arch. f. Anat. u. Phys. 1902. Supplementband. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 32.
Michaelis und Fleischmann, Über die angebliche präzipitinogene Eigenschaft d. Harns. Fortschr. d. Medizin 1904, Nr. 35.
Dies., Über Bindungsverhältnisse zwischen Präzipitin u. präzipitabler Substanz. Zeitschr. für exper. Path. u. Therapie 1905, Bd. I.
Michaelis, Weitere Untersuchungen über Eiweißpräzipitin. Deutsche med. Wochenschrift 1904, pag. 1240.
Ders., Die Eiweißpräzipitine. Biochem. Zentralbl. Bd. III, pag. 693.
*Miessner und Herbst, Die Serumagglutination und ihre Bedeutung für die Fleischuntersuchung. Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde 1902, Bd. XXVIII, Heft 3 u. 4.

Miessner, Mit Rizinussamen verfälschte Erdnußmehle. Mitteilungen des Kaiser-Wilhelmsinstituts für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. IX, Heft 3. Januar 1909.
Ders., Über die Giftigkeit des Rizinussamen. Ebenda.
Minovici, Stephan, Über die neue Methode zur Unterscheidung des Blutes mittels Serum. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 24.
Ders., Über Blutdifferenzierung v. gerichtl. Standpunkte. Verhandl. d. V. intern. Kongresses für angew. Chemie, Berlin 1903, Bericht IV, pag. 99—115. Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 40.
Mirto, Sul valore del metodo biologico. Riforma med. 1901, Vol. II, Nr. 222 u. 223.
Modica, Communicazione alla R. Accademia di Medicina di Torino. Sedula del 31. Maggio 1901.
Ders., Nuovo ricerche sul metodo biologico par la diagnosi di specie del sangue. Arch. Farm. 1907, 5.
Molitoris, Verhandlungen der Naturforscher-Versammlung zu Köln 1908.
Moll, Über Blutveränderungen nach Eiweißinjektionen. Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. 1903, Bd. V, Heft 12.
Ders., Über künstliche Umwandlung von Albumin in Globulin. Ebd. 1903, Bd. IV, Heft 12.
Moreschi, La clin. med. ital. 1902.
Ders., Zur Lehre v. den Antikomplementen. Berliner klin. Wochenschr. 1905 Nr. 37.
Ders., Zur Lehre von den Antikomplementen. 2. Mitteilung. Berliner klin. Wochenschrift 1906, Nr. 4.
Morgenroth, Über die Bindung hämolytischer Ambozeptoren. Münchener med. Wochenschr. 1903, Nr. 2.
Moro, Biolog. Beziehungen zwischen Milch u. Serum. Wiener klin. Wochenschr. 1901, Nr. 44.
Ders., Kuhmilchpräzipitin im Blute eines $4^1/_2$ Monate alten Atrophikers. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 6.
Ders., Weitere Untersuchungen über Kuhmilchpräzipitin im Säuglingsblute. Ibid., Nr. 49.
Moser, Hämoglobinkristalle zur Unterscheidung v. Menschen- u. Tierblut. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. 1901.
*Müller, M., Beitrag zur Anwendbarkeit und Ausführung der bisherigen Eiweißdifferenzierung bei der Ausübung der Auslandfleischbeschau. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1908, Bd. XIX, Heft 1.
Müller, P. Th., Vergleichende Studien über die Gerinnung d. Kaseins durch Lab und Laktoserum. Münchener med. Wochenschr. 1902, pag. 272. Vorl. Mitteil.
Ders., Arch. für Hygiene 1902, Bd. XIV, pag. 126.
Ders., Weitere Studien über die Fällung d. Kaseins durch Lab und Laktoserum. Centralbl. für Bakt. 1902, Bd. XXXII, pag 521.
Ders., Technik der serodiagnostischen Methoden. G. Fischer. Jena 1908.
Myers, Über Immunität gegen Proteïde. Centralbl. für Bakt. 1900, Bd. XXVIII; „On immunity against proteids". The Lancet, Vol. II, pag. 98—100.
Nagelschmidt, F., Gibt es latente Präzipitine? Centralbl. für Bakt. etc. Abt. Orig., Bd. XXXV, Nr. 5, 1904.
Neisser und Sachs, Ein Verfahren z. forens. Nachweis d. Herkunft d. Blutes. Berliner klin. Wochenschr. 1905, Nr. 44.
Dies., Die forens. Blutdifferenzierung d. antihämolyt. Wirkung. Berliner klin. Wochenschr. 1906, Nr. 3.
Dies., Bemerkungen z. d. Arbeit v. Prof. Uhlenhuth über Komplementablenkung u. Bluteiweißdifferenzierung. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 39.
Neresheimer, E., Über den Nachweis der Blutsverwandtschaft bei Fischen durch die Serumdiagnose. (Aus der Königl. Bay. biologischen Versuchsstation in München.) Allgemeine Fischereizeitung 1908, Nr. 24. XXXIII. Jahrg., 15. Dezember.
Neumann, A., Die Erkennung des Blutes bei gerichtlichen Untersuchungen. Verlag von J. J. Weber, Leipzig 1869.
Nicolle, Recherches sur la substance agglutinée. Ann. de l'Inst. Pasteur 1898 und 1899, Mars.
de Nobele, Ann. de la soc. de Gand 1901. pag. 331.
*Noetel, Über ein Verfahren z. Nachweis v. Pferdefleisch. Zeitschr. für Hygiene u. Infektionskrankh. 1902, Bd. XXXIX.
Noguchi, Centralbl. für. Bakt. Bd. XXXIII, Nr. 5.
Nolf, Contribution à l'étude des sérums antihématiques. Ann. de l'Inst. Pasteur 1900, Bd XIV, pag. 297.
*Nuttall, On the formation of specific antibodies etc. Journ. of hyg. 1901, Vol. I, pag. 367—387, 1. Juli.

*Nuttall, The new biological test for blood in relation to zoological classification. Proceedings of the Royal Society 1901, Vol. LXIX. British med. Journ. 1901, Vol. I, pag. 1141, 11. Mai; Vol. II, pag. 669, 14. Sept. Journ. of tropical med. 1901 (16. Dez.), pag. 405—408; American Naturalist 1901. Vol. XXXV, pag. 927—932.

Ders., Progress report upon the biological test for blood etc. Brit. med. Journ. 1902. 5. April.

Ders., Further observations upon the biological test for blood (Read 20 January 1902). Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, Vol. XI, Pt. V.

Ders., Blood immunity and blood relationship etc. Cambridge 1904. University Press.

Nuttall und Jnchley, An improved Method of measuring the amount of precipitum in connection with tests with precipitating antisera. Journ. of hyg. 1904, Vol. IV, Nr. 2.

Nuttall u. Dinkelspiel, On the formation of specific antibodies etc. Journ. of hyg. 1901, Vol. I, pag. 367—387.

Obermeyer und Pick, Biologisch-chem. Studien über das Eiklar. Wiener klin. Rundschau 1902, Nr. 15.

Ders., Über den Einfluß physikalischer u. chem. Zustandänderungen präzipitinogener Substanzen auf die Bildung von Immunpräzipitinen. Ref. in Wiener klin. Wochenschr. 1903, Nr. 22.

Ders., Beiträge zur Kenntnis d. Präzipitinbildung. Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 10.

Dies., Über die chem. Grundlagen d. Arteigenschaften d. Eiweißkörper. Wiener klin. Wochenschr. 1906, pag. 327.

Oberndorffer, Zur Technik der Blutentnahme. Münchener med. Wochenschr. 1905, Nr. 16, pag. 778.

Ogier, Über die Uhlenhuth-Wassermannsche Methode des Blutnachweises. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 26.

Ogier und Herscher, Moyen de connaître la présence du sang-humain dans une tache de sang. Ann. d'hyg. publique et de méd. lég. 1901. Vol. XLVI, pag. 538.

Okamoto, Untersuchungen über den forensischen praktischen Wert der serumdiagnostischen Methode. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. 3. Folge. Nr. 24.

Ollendorff, Beitrag zur Technik des Marx-Ehrenroothschen Verfahrens zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Zeitschr. für Med. Beamte 1905, Nr. 14.

Oppenheimer, Über Einwirkung des Trypsins auf die Präzipitinreaktion. Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiol. und Pathol. 1903.

Ders., Über das Schicksal der mit Umgehung des Darmkanals eingeführten Eiweißkörper im Tierkörper. Ebenda 1903.

Oppenheimer und Michaelis, L., Vortrag. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 32.

Ottolenghi, Estratto dagli atti della Accademia dei Fisiocritici. Siena 1902, Serie IV, Vol. XIV.

Ders., Über die Konservierung der präzipitierenden Sera. Wiener klin. Wochenschrift 1906, Nr. 29.

*Ostertag, Zum Nachweis des Pferdefleisches nach den Ausführungsbestimmungen zum Reichsfleischbeschaugesetz. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1906, Heft 11, 16. Jahrg.

Ders., Handbuch der Fleischbeschau 1902.

Palleske, Eine neue Methode des Blutnachweises. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med., 3. Folge, Bd. XXIX, pag. 2.

Paltauf, Über Agglutination und Präzipitation. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 50.

Patek, A. J. und Bennett, W. C., The new antiserum method of differentiating human from other blood and its medico legal aspecti: Preleminary report of experiments. Americ. Medicine, Vol. IV, pag. 374—377 (6. Sept. 1902). Read before the Milwaukee Medical society, 8. April 1902.

Pfeiffer, H., Erfahrungen mit der Marx-Ehrenroothschen Methode zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Deutsche med. Wochenschrift 1904, Nr. 30.

Ders., Beiträge zur Lösung des biologisch-forensischen Problems der Unterscheidung von Spermaeiweiß gegenüber den anderen Eiweißarten derselben Spezies durch die Präzipitinmethode. Verhandl. deutscher Naturforscher und Ärzte in Meran 1905, Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 24.

Ders., Über den Entwicklungsgang, über neue Ergebnisse und Bestrebungen der Präzipitinforschung. Arch. für Kriminalanthropologie 1906, Bd. 22.

Pfeiffer, H. und Wagner, Erfahrungen mit der Blutdifferenzierungsmethode nach van Itallie. Verhandl. der deutschen Gesellsch. für gerichtl. Medizin in Stuttgart 1906. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. 1907, Bd. XXXIII. Suppl.

*Pflüger, Die Ausführungsbestimmungen zum Reichsfleischbeschaugesetz vom 30. Mai 1902, betreffend den Nachweis des Pferdefleisches, müssen schleunigst geändert werden. Pflügers Archiv 1906.

Phisalix und Bertrand, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1894, pag. 111.

Pick, Zur Kenntnis der Immunkörper. Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiol. und Pathol. 1901, Nr. 1 und 1902, Nr. 2.

*Pietrini, Beitrag zur Unterscheidung der Fleischsorten mittels präzipitierender Sera. La Clin. vet. 1904, II. Teil, pag. 165.

Piorkowski, Die spezifischen Sera. Centralbl. für Bakt. 1902, Bd. XXXI.

Ders., Berliner tierärztl. Wochenschr. 1902, Nr. 10.

Ders., Bericht der deutschen pharm. Gesellschaft 1902, Heft 1.

Ders., Ein einfaches Verfahren zur Blutdifferenzierung. Ebenda 1906, Heft 6.

Pieri, Clinica moderna 1904, Nr. 21. Referiert im biochemischen Centralbl., Bd. III, pag. 34.

Popp, G., Erfahrungen mit dem biologischen Eiweiß-Differenzierungsverfahren bei Wurstuntersuchungen. Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel usw. 1907, Bd. XIV, Heft 1 und 2.

Porges, Über den Einfluß des Bakterienproteins auf die Agglutination und Präzipitation. Zeitschr. für experim. Pathol. und Therapie 1905.

Prettner, Zur Konservierung der Immunsera für die Praxis. Zeitschr. für Infektionskrankheiten und Haustiere, Bd. II, pag. 200.

Puppe, Die gerichtlich-medizinischen Untersuchungsmethoden, Festschrift zur Feier des 25jährigen Bestehens des Preußischen Medizinalbeamten-Vereins. 1908. Verlag Fischers med. Buchhandlung.

Ders., Blutnachweis. Verein für wissenschaftl. Heilkunde zu Königsberg vom 8. März 1909; s. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Referat.

Praum, La différenciation du sang de l'homme et des animaux à l'aide de sérums spécifiques d'après un travail de M. le Professeur Uhlenhuth. Ann. d'hygiène publique et de méd. légale 1906. (Paris, J. B. Baillières et Fils.)

Pribram, Über die Schwankungen der Präzipitinreaktion im normalen und pathologischen Serum. Zeitschr. für experim. Pathol. 1906, Bd. III, pag. 28.

Ranzi, E., Über Komplementablenkung durch Serum und Organe. Wiener klin. Wochenschrift 1906, Nr. 51.

Relander, Kann man mit der Präzipitinreaktion Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten voneinander unterscheiden. (Vorläufige Mitteilung.) Centralbl. für Bakt. (II. Teil) 1908, Bd. XX, Nr. 15/17. März.

Richter, Max, Über Hämoglobinkrystalle. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. 1900, Bd. XXII.

Ders., Der mikroskopische Nachweis von Blut zu gerichtlich-medizinischen Zwecken. Friedreichs Blätter für gerichtliche Medizin 1900.

Richter, Ed., Gangränöse Pachymeningitis und Wasserstoffsuperoxyd Merck zum Blutnachweis. Monatsschr. für Ohrenheilk. 1904, Nr. 7.

Rickmann, W., Beitrag zur biologischen Eiweißdifferenzierung. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1907, Heft 6, pag. 197 und Arbeiten a. d. Königl. Institut für experimentelle Therapie Frankfurt a. M. Jena 1907, Heft 3.

v. Riegler, Die Serodiagnose in der Untersuchung der Nahrungsmittel. Österreich. Chemikerztg. 1902, Nr. 5.

*Rievel, Refraktometrische Untersuchungen von Fleisch und Milch. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1905, Nr. 12.

Robin, Philadelphia med. Journ., Vol. 7.

Rodet und Lagrifont, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1903.

Roessle, Über die chemische Individualität der Embryonalzellen. Münchner med. Wochenschr. 1905, Nr. 27.

Rosenberg, W., Staatsanwalt, Der Fall Martz. Archiv für Kriminalanthrop. und Kriminalistik. Okt. 1902.

Römer, P. und Much, H., Antitoxin und Eiweiß. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. LXIII, Heft 6.

Römer, P., Die Pathogenese der Cataracta senilis vom Standpunkt der Serumforschung. Archiv für Augenheilk., Bd. LVI, Ergänzungsheft (1907).

Rostoski, Über den Wert der Präzipitinreaktion als Unterscheidungsmittel für Eiweiß. Münchener med. Wochenschr. 1902, Nr. 18 und Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5.

Rostoski, Zur Kenntnis der Präzipitine. Würzburg 1902. Huberts Verlag.
Ders., Über Albumosen- und Peptonpräzipitine. Phys.-med. Gesellschaft Würzburg 1902.
Ders., Die Serumdiagnostik. Würzburger Abhandl. aus dem Gesamtgebiet der prakt. Medizin 1903.
Ders., Über die Bindung von Präzipitin und Eiweiß im Tierkörper. Salkowski Festschrift.
*Ruppin, Zum Nachweis von Pferdefleisch. Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungsmittel 1902, Nr. 8.
*Rusche, W., Kann Pferdefleisch durch die quantitative Glykogenanalyse mit Sicherheit nachgewiesen werden? Inaug.-Diss. Ref. in der Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1907, Heft 7.
Sachs und Bauer, Über die Differenzierung des Eiweißes in Gemischen verschiedener Eiweißarten. Arbeiten aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. 1907, Heft 3.
Sachs, H., Über die komplementablenkende Funktion des normalen Serums. Centralbl. für Bakt. etc., Orig., Bd. XL, pag. 388.
Ders., Über das Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Hämolyse. Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 18.
Ders., Die Hämolyse und die cytotoxischen Sera. Sep.-Abdr. aus Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse usw. XI. Jahrg. Verlag von J. F. Bergmann, Wiesbaden 1907.
Ders., Diskussionsbemerkung zu dem Vortrage von Weidanz: Über die Konservierung präzipitierender Sera. 2. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908. Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Referate. Bd. XLII. Beiheft 1908.
Ders., Hämolysine und Cytotoxine des Blutserums. Kraus-Levaditis Handbuch. Bd. II, Liefg. 2.
Sacconachi, Über die Präzipitine der Verdauungsprodukte. Zeitschr. für klin. Med. 1903, Bd. LI, Heft 3 und 4.
Sanger, Biolog. test for blood from its medico legal aspect Thesis.
Schattenfroh, Über spezifische Blutveränderungen nach Harninjektionen. Münch. med. Wochenschr. 1901, pag. 1239 und Zeitschr. für Hyg., Bd. XLIV, pag. 339.
Schkarin, Über Präzipitation bei neugeborenen Kaninchen. (Beitrag zum Studium der künstlichen Ernährung der Neugeborenen.) Archiv für Kinderheilkunde, Bd. XLVI, pag. 357.
Schlesinger und Holst, Vergleichende Untersuchungen von Minimalblutungen in den Fäzes nebst einer neuen Modifikation der Benzidinprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 36.
Schlossmann, Zeitschr. für phys. Chemie 1896, Bd. XXII, pag. 197.
Schlossmann und Moro, Zur Kenntnis der Arteigenheit der verschiedenen Eiweißkörper in der Milch. Münchener med. Wochenschr. 1903, Nr. 14.
*Schmidt, W. A., Untersuchung über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiß-Antisera für die Fleischdifferenzierung. Biochemische Zeitschr. 1907, Bd. V, Heft 5 und 6.
Ders., Chemische und biologische Untersuchungen von ägyptischen Mumienmaterial nebst Betrachtungen über das Einbalsamierungsverfahren der alten Ägypter. Zeitschr. für allgem. Physiol. 1907, Bd. VII, Heft 2 u. 3.
Ders., On the application of the serum precipitin test in meat examination. Cairo Scientific Journal. Vol. II, Nr. 18, March 1908.
Ders., Über Mumienfettsäuren. Chemikerzeitung 1908, Nr. 65.
Ders., Studien über Präzipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe. Biochemische Zeitschrift, Bd. XIV, Heft 3 u. 4.
Ders., Woraus besteht Fleischsaft „Puro". Med. Klinik 1908, Nr. 21.
Ders., Über den Hemmungseinfluß (Bindungsfähigkeit) inaktivierten Präzipitogens bei der Präzipitinreaktion. Folia serologica 1908, Bd. I, pag. 393—401.
Schmorl, Pathologisch-histologische Untersuchungsmethoden. Leipzig 1901. 2. Aufl.
Schulz, A., Zum Kapitel des biologischen Blutnachweises. Zeitschr. für Med.-Beamte 1902, Nr. 18.
Ders., Über quantitativen Blutnachweis. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. 1905, Heft 1.
Ders., Die Technik quantitativer Eiweißbestimmung mit Hilfe der Präzipitinreaktion. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1906, Bd. XII, Heft 5.
Schulz, Werner, Über Isohämolysine und Hämagglutinine beim Kaninchen. Deutsches Archiv für klin. Med. 1905, Bd. LXXXIV.
Ders., Biologische Versuche zur Kenntnis des Liquor ferri albuminati. Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 7.

Schumm, Zur Kenntnis der Benzidinprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 12.
Schumm und Westphal, Über den Nachweis vom Blutfarbstoff mit Hilfe der Adlerschen Benzidinproben. Zeitschr. für physiol. Chemie 1905.
Schur, Über die praktische Verwertbarkeit der spezifischen Präzipitation. Kolle u. Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen 1904, Bd. IV pag. 630—639.
*Schüller, Der Nachweis von Pferdefleisch durch das biologische Verfahren. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1908, Heft 2 u. 3.
Schütze, Über ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der Eiweißstoffe verschiedener Milcharten. Zeitschr. für Hygiene 1901, Bd. XXXVI.
Ders., Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweißarten auf biologischem Wege. Ebenda 1901, Bd. XXXVIII.
Ders., Experimenteller Beitrag zur Wassermannschen Serodiagnostik bei Lues. Berliner klin. Wochenschr. 1907, Nr. 5 und 1906, Nr. 7. — Mediz. Klinik 1906, Nr. 18.
*Ders., Über die Anwendung der Ablenkung hämolytischer Komplemente zum Nachweis von Pferdefleisch. Med. Klinik 1906, Nr. 18.
Ders., Über Antilaktoserum (Antipräzipitine). Vereinsbl. der Deutschen med. Wochenschrift 1902, Nr. 1.
Ders., Festschrift für v. Leyden 1902: „Zur Kenntnis der Präzipitine".
Ders., Über weitere Anwendung der Präzipitine. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 45.
Ders., Über einige praktische Anwendungen der Präzipitine in der Nahrungsmittelchemie. Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh., Bd. LVII, pag. 151.
Ders., Über die Unterscheidung von Menschen- und Tierknochen. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 4.
Ders., Über den forensischen Wert des Neisser-Sachsschen Verfahrens der Komplementablenkung. Berliner klin. Wochenschr. 1906, Nr. 52.
Schwabe, Beitrag zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Wassermann-Schütze-Uhlenhuthschen Serumprobe auf Menschenblut. Zeitschr. für Med.-Beamte 1902, Nr. 6.
Serafini und Diez, Sulla applicaziona della cancro precipitine nella diagnosi del carcinoma gastrico. Gior. R. Acad. Med. 1907, Nr. 3—4.
Sick, Über die Herkunft und Wirkungsweise der Hämagglutinine. Deutsches Arch. für klin. Med. 1904, Bd. LXXX.
Sieradzki, Przeglad lekarski 1901, Nr. 25 u. 26. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 28.
Sion und Laptes, Die hygienische Differenzierung der Marktmilch und deren Derivate auf biologischem Wege. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1902, 13. Jahrg., Heft 1 u. 2.
Sohma und Wilenko, Über Meconiumpräzipitine. Freie Vereinigung für Mikrobiologie, Sitzung vom 5. Juni 1909. Zeitschr. für Immunitätsforschung 1909, Bd. III, Heft 1.
Strassmann, Lehrbuch der gerichtlichen Medizin 1895.
Stern, Über den Nachweis des menschlichen Blutes durch ein Antiserum. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 9.
Stockis, Ann. de la Soc. médico-chirurg. de Liège 1901. Mai.
Stoenescu, La différenciation du sang par le sérum spécifique. Ann. d'hygiène et de méd. lég. 1902. Sept.
Strassmann, Schulz und Marx, Bericht über das Neisser-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch 1908, Bd. XIX.
Strauch, Der serodiagnostische Nachweis von Menschenblut vor Gericht. Vortrag auf der 77. Naturf.-Versamml. in Meran. Ärztl. Sachverst.-Ztg. 1905, Nr. 21.
Strube, Beitrag zum Nachweis von Blut und Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 24.
Tallqvist, Zur Pathogenese der perniziösen Anämie mit besonderer Berücksichtigung der Bothriocephalusanämie. Zeitschr. für klin. Med., Bd. LXI, Heft 5 und 6.
Tarchetti, Di un nuovo metodo par differenziare il sangue umano. Gaz. degli ospedali 1901, Nr. 60.
Tchistovitch, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. de l'Inst. Pasteur 1899, Tome XIII, pag. 406.
Uhlenhuth, P., Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. 1900, Nr. 46. 15. November.
Ders., Vortrag im Greifswalder med. Verein. 1. Dezember 1900. Ref. Münchener med. Wochenschr. 1901, Nr. 8.

Uhlenhuth, P., Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, im besonderen zum differential-diagnostischen Nachweis des Menschenblutes. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 6. 7. Februar.

Ders., Vortrag im Greifswalder med. Verein. 2. März 1901. Ref. Münchener med. Wochenschr. 1901, Nr. 14. (2. April.)

Ders., Über eine neue forensische Methode zum Nachweis von Menschenblut. Archiv für Kriminalanthropologie und Kriminalistik 1901.

Ders., Weitere Mitteilungen über meine Methode zum Nachweis von Menschenblut. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 17. (25. April.)

Ders., Vortrag im naturwissenschaftlichen Verein für Neuvorpommern und Rügen. 5. Juni 1901. Ref. Verhandl. des naturwissensch. Vereins 1901.

Ders., Weitere Mitteilungen über die praktische Anwendung meiner forensischen Methode zum Nachweis von Menschen- und Tierblut. Deutsche med. Wochenschrift 1901, Nr. 30. (25. Juli.)

Ders., Neue Ergebnisse meiner weiteren Untersuchungen über die Unterscheidung der verschiedenen Blutarten. Vortrag im Greifswalder med. Verein. Juli 1902. Ref. Münchener med. Wochenschr. 1902, Nr. 37.

*Ders., Die Unterscheidung des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezieller Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 45.

Ders., Bemerkungen zu dem Aufsatz von Kratter: Über den forensischen Wert der biologischen Methode zur Unterscheidung von Tier- und Menschenblut. Archiv für Kriminalanthropologie und Kriminalistik, Bd. X.

Ders., Praktische Ergebnisse der forensischen Sero-Diagnostik des Blutes. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 37 u. 38.

Ders., Zur historischen Entwicklung meines forensischen Verfahrens zum Nachweis von Blut und Fleisch mit Hilfe spezifischer Sera. Deutsche tierärztliche Wochenschr. 1903, Nr. 16. 11. Jahrgang und tierärztliche Wochenschr. 1903, Nr. 25.

Uhlenhuth und Beumer, Praktische Anleitung zur gerichtsärztlichen Blutuntersuchung mittels der biologischen Methode. Zeitschr. für Med.-Beamte 1903, Nr. 5 und 6.

Uhlenhuth, Vortrag im Greifswalder med. Verein. Dezember 1902. (Ref.) a) Demonstration der Laktoserumreaktion. — b) Demonstration eines Dotterantiserums. Münchn. med. Wochenschr. 1903, Nr. 4 u. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5.

Ders., Ein neuer biologischer Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht. Vortrag, gehalten auf der 35. Versammlung der deutschen anthropologischen Gesellschaft in Greifswald. 3. bis 6. August 1904. Korrespondenzbl. der deutschen anthropologischen Gesellschaft 1904, Nr. 10. Die Umschau 1904, Nr. 39.

Ders., Präzipitine, Eulenburgs encyklopädische Jahrbücher der gesamten Heilkunde. Neue Folge 1904, Bd. II.

Ders., Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Festschrift für Robert Koch. (60. Geburtstag. 11. Dezember 1903.)

Ders., Diskussion zu dem Vortrage von Minovici: Über Blutdifferenzierung vom gerichtlichen Standpunkt. Verhandl. des V. intern. Kongresses für angewandte Chemie. Berlin 1903.

Ders., Der forensische Blutnachweis. Vortrag gehalten auf der 76. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Breslau 1904.

Ders., Der forensische Blutnachweis. Fortschritte der Med. 1904, Nr. 3.

Ders., Der forensische Blutnachweis. Wiener med. Wochenschr. 1904, Nr. 43 u. 44.

Uhlenhuth und Jung, Über ein Ausflockungsphänomen in künstlichen Öl-Emulsionen durch Serum normaler und vorbehandelter Tiere. Vortrag im Medizinischen Verein zu Greifswald vom 3. Dezember 1904. Ref.: Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 14.

Uhlenhuth, Über die Bestimmung der Herkunft von Mumienmaterial mit Hilfe spezifischer Sera. Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 6.

Ders., Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut etc. G. Fischer. Jena 1905.

Ders., Eine Methode zur Unterscheidung nahe verwandter Blutarten. Verhandl. der 77. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Meran 1905.

Ders., Über den Stand der forensischen Blutuntersuchung. Mediz. Klinik 1905, Nr. 22.

Ders., Über die Verwertbarkeit der Komplementablenkung für die forensische Praxis und die Differenzierung verwandter Blut- und Eiweißarten. Centralbl. für Bakt. 1906, Bd. XXXVIII. Referat.

Ders., Komplementablenkung und Bluteiweißdifferenzierung. Deutsche med. Wochenschrift 1906, Nr. 31.

Uhlenhuth, Komplementablenkung und Bluteiweißdifferenzierung, Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 51.
Ders., Verhandl. des XV. internat. med. Kongresses, Lissabon 1906 (April).
Ders., Der biologische Nachweis der verschiedenen Blutarten und die Blutsverwandtschaft unter den Tieren. Vortr. in der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde. Februar 1907. (Verhandl. der Deutschen Gesellsch. für Züchtungskunde.)
Ders., Über die Entwicklung und den jetzigen Stand der biologischen Blutdifferenzierung. Beiheft zur Med. Klinik 1907, Heft 9.
Ders., Diskussionsbemerkung zu dem Vortrage von Weidanz: Über die Konservierung präzipitierender Sera. 2. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908. Centralbl. für Bakt. 1. Abt. Referate. Bd. XLII. Beiheft 1908.
*Uhlenhuth, Weidanz u. Wedemann, Über Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. XXVIII, Heft 3.
Uhlenhuth, Weidanz u. Angeloff, Über den biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitamte 1908, Bd. XXVIII, Heft 3.
Uhlenhuth und Weidanz, Mitteilungen über einige experimentelle Krebsforschungen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1909, Bd. XXX, Heft 2.
Dies., Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens (Präzipitinmethode) mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischdifferenzierung. Kraus u. Levaditis Handbuch 1909, Bd. II, pag. 721—833.
Umber, Zur Chemie u. Biologie der Eiweißkörper. Berl. klin. Wochenschr. 1902, pag. 657.
Vallée und Nikolas, Les sérums précipitants. Bull. de la Soc. centr. de méd. vét. Tome XXI, pag. 293—297.
Verdier, L., Contribution à l'étude de la differenciation individuelle du sang humain. Thèse du Toulouse 1906.
Vogel, Deutsches Archiv für klin. Med., Bd. LXXII, pag. 291.
Walter, Zur Vereinfachung des chemischen Blutnachweises mittels Benzidin. Greifswalder med. Verein, Sitzg. vom 18. Juni 1908. Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 3. (Vereinsbeilage.)
Wassermann, A., Verhandl. d. Kongr. für innere Medizin. Wiesbaden 1900, pag. 501.
Ders., Hämolysine, Cytotoxine und Präzipitine. Samml. klin. Vorträge v. Volkmann. Verlag von Breitkopf & Härtel, Leipzig 1902.
Ders., Über Agglutinine u. Präzipitine. Zeitschr. für Hyg. u. Inf. 1902, Bd. LXII.
Ders., Über die biol. Mehrleistung des Organismus usw. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 1.
Ders., Über das biol. Eiweißdifferenzierungsverfahren. Verhandl. d. V. intern. Kongresses für angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht IV, pag. 123.
Ders., Anleitung für die Ausführung d. biol. Eiweißdifferenzierungsmethode.
Ders., Gibt es ein biol. Differenzierungsverfahren für Menschen- u. Tierblut mittels der Präzipitine? Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 12.
Ders., Zeitschrift für Hygiene u. Infektionskrankheiten der Haustiere 1906, Bd. I.
Wassermann und Schütze, Deutsche med. Wochenschr. 1900, Nr. 30.
Dies., Über eine neue forensische Methode zur Untersuchung von Menschen- und Tierblut. Berl. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 7. (Phys. Gesellsch. Berlin. 8. Febr. 1901.
Dies., Über die Entwicklung d. biol. Methode zur Unterscheidung von menschl. u. tier Eiweiß mittels Präzipitine. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 27.
Dies., Über d. Spezifität d. Eiweißpräzipitinsera u. deren Wertbemessung für die Praxis. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 11.
Wegner, Monatschr für Unfallheilkunde 1902.
Weichardt, Recherches sur l'antispermatoxine. Ann. de l'Inst. Pasteur 1901, Nr. 11, pag. 832.
Ders., Über die Syncytiotoxine. Hygienische Rundschau 1903, pag. 491.
Ders., Über den biol. Blutnachweis, Verhandl. d. V. intern. Kongresses für angew. Chemie Berlin 1903, Bericht IV, pag. 119.
Ders., Der Nachweis individueller Blutdifferenzen. Hygienische Rundschau 1903, Nr. 15. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. usw. 1905.
Ders., Zur Frage des Nachweises individueller Blutdifferenzen. Vierteljahrsschr. für gerichtl. Medizin u. öffentl. Sanitätswesen, 3. Folge, Bd. XXIX, Heft 1.
*Weidanz, O. u. Borchmann, Vergleichende Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Präzipitinreaktion und der Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdefleisch. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. XXVIII, Heft 3.
*Weidanz, O., Die Anwendung des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene 1907, 18. Jahrg., Heft. 3.

*Weidanz, O., Zur Technik der sterilen Filtration. Centralbl. für Bakt. Orig. 1908, Bd. XLVI, Heft 6.

Ders., Über die Konservierung präzipitierender Sera. Vortrag in der freien Vereinigung für Mikrobiologie zu Berlin am 13. Juni 1908 und Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. XXIX, Heft 2. Centralbl. für Bakt., Bd. XLII. Beiheft.

Ders., Über den biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten. Demonstration a. d. freien Vereinigung für Mikrobiol. zu Berlin 1908. Centralbl. für Bakt. usw. 1. Abt. Referate. Bd. XLII. Beiheft 1908.

Ders., Zur Technik und Methodik der biologischen Eiweißdifferenzierung. Vortrag gehalten am 23. September 1908 auf der 80. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Köln. Vierteljahrsschr. für gerichtliche Medizin 1909, Bd. XXXVII. 2. Suppl.-Heft.

Ders., Über einen Brutschrank für Hämolyse-Versuche. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1909, Bd. XXX, Heft 2.

Weil-Hallé und Lemaire, Action empéchante d'un antiserum sur la production de précipitine. Soc. de biol. 1902, Tome LX, pag. 164. Juli 26.

Welsh und Chapman, On the Main Source of Precipitable Substance and the Rôle of the Homologues Proteid in Precipitin Reaktions. Reprinted from the Proceedings of the Royal Society B. 1906, Vol. LXXVIII.

Dies., Precipitin antisera and their standardisation. The journ. of Hyg. 1906, Tome VI, Nr. 3.

Dies., Precipitin reactions in relation to state medizine and the public health. Verlag W. F. Schmith, Bridge-Street, Sydney 1907.

Dies., A Note on Precipitins. Australasian Medical Gazette. Jan. 1906.

Dies., The precipitin reaction in hydatid disease. Lancet 1908, Tome I. pag. 1338.

Dies., On the certain phenomena of inactivation exhibited by precipitin antisera. Proc. Roy. Soc. 1907, Bd. LXXIX, pag. 465—472.

Dies., On the weight of precipitin obtainable in precipitin inter-actions with small weights of homologous protein. Proc. Royal Soc. 1908, Tome LXXX, pag. 161 de 164.

Welsh, Chapman und Storey, Some applications of the precipitin reaction in the diagnosis of hydatid disease. Lancet 1909, 17. April, pag. 1103.

Whitney, W. F., Notes on the production of the test-serum in rabitts. Boston med. and surg. Journ., Nr. 146, pag. 429. (24. 4. 1902.)

Whittier, F. N., Agglutination test for human blood. American Med. Vol. III, pag. 96. (18. 1. 1902.)

Wilde, Ref. Münchener med. Wochenschr. 1901, Nr. 51.

Wilenko, Über Spezifizität der Präzipitine erzeugt durch Kotsekrete. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 48 und Zeitschr. für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Bd. I, Heft 2.

Wladimiroff, Über Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkultur. St. Petersburger med. Wochenschr. 1898 und 1900 und Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

Wolff, Über den jetzigen Stand des serodiagnostischen Verfahrens zur Unterscheidung der verschiedenen Arten von Blut, Milch usw. Sep.-Abdr. aus dem offiziellen Bericht der I. Hauptversammlung des Deutschen med. Beamtenvereins am 15. u. 16. Sept. 1902. (Zeitschr. für Medizinalbeamte.)

Wood, E. S., Medico-legal examination of Blood-stains. Boston med. and surg. Journ., Vol. CXLV, pag. 533—537. (14. 11. 1901.)

Ders., The serum test for blood. Ibid. Vol. CXLVI, pag. 424—427. (24. 6. 1902.)

Zebrowski, Sur les rapports entre la sensibilatrice hémolytique et le précipitogène. Centralbl. für Bakt. 1907, Bd. XLV, pag. 49—55.

Ziemke, Zur Unterscheidung von Menschen- u. Tierblut mit Hilfe eines spez. Serums. Deutsche Med. Wochenschr. 1901, Nr. 26.

Ders., Weitere Mitteil. über die Unterscheidung von Menschen- u. Tierblut usw. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 42.

Ders., Über die ungleiche Resistenz d. Blutfarbstoffes verschiedener Tiere gegenüber Alkalien usw. Vierteljahrschr. für gerichtl. Med. usw. 1901, Nr. 22.

Ders., Bericht über die I. Hauptversammlung des Deutschen Medizinalbeamtenvereins zu München 1902.

Zülzer, Zur Frage d. biol. Reaktion auf Eiweiß in Blut und Harn. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 14.

Zupnik, Über die Spezifizität der Bakterienpräzipitine. Wiener klin. Wochenschr. 1907, pag. 667 u. 967.

Ant. Kämpfe, Buchdruckerei, Jena.